

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MONOSODIUM GLUTAMAT
DAN DIET TINGGI LEMAK TERHADAP KETEBALAN
ENDOMETRIUM TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Elissa Destianie

NIM: 145070607111002

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak	vii
<i>Abstract</i>	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Endometrium	7
2.1.1 Anatomi dan Histologi	7
2.1.2 Perubahan Siklis pada Endometrium	10
2.1.3 Hormon-Hormon yang Mempengaruhi Endometrium	17
2.1.4 Infertilitas	20
2.2 Monosodium Glutamat (MSG)	22
2.2.1 Definisi	22
2.2.2 Metabolisme Monosodium Glutamat	22
2.2.3 Toksisitas Monosodium Glutamat	24
2.2.4 Hubungan MSG dengan Sistem Reproduksi Wanita	25
2.3 Diet Tinggi Lemak	26
2.3.1 Definisi	26
2.3.2 Toksisitas Diet Tinggi Lemak	27
2.4 Hewan Coba	29
2.4.1 Tikus Wistar (<i>Rattus Novergicus</i>)	29
2.4.2 Sistem Reproduksi	30
2.4.3 Pakan Tikus	33
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	35
3.2 Hipotesis Penelitian	37
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	38
4.2 Populasi dan Sampel	38
4.2.1 Kriteria Inklusi	40
4.2.2 Kriteria Eksklusi	40
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian	40
4.4 Variabel Penelitian	41

4.4.1 Variabel Tergantung.....	41
4.4.2 Variabel Bebas.....	41
4.4.3 Variabel Kendali.....	41
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	42
4.5.1 Alat	42
4.5.1.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba	42
4.5.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba	42
4.5.1.3 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba	42
4.5.1.4 Alat Pemeriksaan Histologi	42
4.5.1.5 Alat Bedah Hewan Coba	42
4.5.2 Bahan	42
4.5.2.1 Bahan Makanan Tikus	42
4.5.2.2 Bahan untuk Pembedahan Hewan Coba	43
4.5.2.3 Bahan Pengamatan Histologi.....	43
4.6 Definisi Istilah/Operasional.....	43
4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data	45
4.7.1 Pembuatan Diet Normal	45
4.7.2 Pembuatan Diet Tinggi Lemak	45
4.7.3 Pemaparan MSG pada Tikus	45
4.7.4 Perlakuan terhadap Tikus	46
4.7.5 Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi	47
4.7.6 Pengamatan Histologi Ketebalan Endometrium dengan Kamera <i>Dot Slide Olympus XC 10</i> Perbesaran 400x	48
4.8 Analisis Data.....	49
4.9 Skema Alur Penelitian.....	51
4.10 Etik Penelitian	52
BAB 5. HASIL PENELITIAN	
5.1 Karakteristik Subjek	54
5.2 Pengaruh Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG Berbagai Dosis Terhadap Ketebalan Endometrium (μ m) Tikus Putih (<i>Rattus</i> <i>novergicus</i>)	58
BAB 6. PEMBAHASAN	
6.1 Pengaruh Kombinasi MSG dan Diet Tinggi Lemak terhadap Ketebalan Endometrium	62
6.1.1 Diet Tinggi Lemak terhadap Ketebalan Endometrium	62
6.1.2 MSG terhadap Ketebalan Endometrium.....	63
6.1.3 Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG terhadap Ketebalan Endometrium	64
6.2 Pengaruh Ketebalan Endometrium terhadap Sistem Reproduksi.....	66
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	66
BAB 7. PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	67
7.2 Saran.....	67
Daftar Pustaka.....	68

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Komposisi Diet Tinggi Normal	45
Tabel 2.2 Komposisi Diet Tinggi Lemak	45
Tabel 5.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Ragam Ketebalan Endometrium	59
Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Rerata Ketebalan Endometrium	60



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Uterus, Vagina, dan Tuba uterina.....	7
Gambar 2.2	Perubahan pada Ovarium dan Endometrium Selama Silus Haid..	10
Gambar 2.3	Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Menstruasi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin	12
Gambar 2.4	Gambaran Histologis Dinding Uterus Fase Proliferasi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin	13
Gambar 2.5	Gambaran Histologis Dinding Uterus Fase Sekretori dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin	14
Gambar 2.6	Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Proliferatif, Sekretoris, Pramenstruasi	14
Gambar 2.7	Gambaran Histologi Ovarium	17
Gambar 2.8	Tikus <i>Rattus novergicus</i> Galur Wistar	30
Gambar 5.1	Mikroskopis Endometrium Tikus dengan Pengecatan HE	55
Gambar 5.2	Siklus Metestrus.....	56
Gambar 5.3	Siklus Proestrus	57
Gambar 5.4	Perbandingan Rerata Ketebalan Endometrium	58



DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
CAC	: <i>Codex Alimentary Commision</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl Cellulose</i>
DHS	: <i>Demographic and Health Surveys</i>
DIO	: <i>Diet-Induced Obese</i>
DTL	: <i>Diet Tinggi Lemak</i>
DR	: <i>Diet-Resistant</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GABA	: <i>Gamma Ammino Butiric Acid</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>
HCl	: <i>Hydrochloric Acid</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: <i>Hematoksilin-Eosin</i>
IVF	: <i>In Vitro Fertilization</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
LPD	: <i>Lutheal Phase Deficiency</i>
MSG	: <i>Monosodium Glutamat</i>
P1	: <i>Perlakuan 1</i>
P2	: <i>Perlakuan 2</i>
P3	: <i>Perlakuan 3</i>
PA	: <i>Patologi Anatomi</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SHBG	: <i>Sex Hormone Binding Globulin</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TG	: <i>Trigliserida</i>
TSH	: <i>Thyroid-Stimulating Hormone</i>
VEGF	: <i>Vascular Endhotelial Growth Factors</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

DAFTAR SINGKATAN

Lampiran 1 Etik Penelitian	75
Lampiran 2 Data Ketebalan Endometrium per Lapang Pandang	76
Lampiran 3 Uji Prasyarat ANOVA dengan Perangkat SPSS.....	77
Lampiran 4 Hasil Uji <i>One Way</i> ANOVA Rerata Ketebalan Endometrium dengan Perangkat SPSS	78
Lampiran 5 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Test dengan Uji LSD 5% Rerata Ketebalan Endometrium Perangkat SPSS	79
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian	80



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MONOSODIUM GLUTAMAT
DAN DIET TINGGI LEMAK TERHADAP KETEBALAN
ENDOMETRIUM TIKUS PUTIH (*Rattus novvergicus*)

Oleh:

Eliisa Destianie

NIM. 145070607411002

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 21 Februari 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

dr. Yhusi Karina R. MSc.

NIK. 20140580051212001

Pembimbing-I/Penguji-II

Thia k

dr. Nia Kurnianingsih, M.Biomed
NIK.2011068404072001

Pembimbing-II/ Penguji-III

Miftahul Jannah

Miftahul Jannah, SST, M.Keb
NIK. 2016118605162001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan

Linda Ratna Wati, SST, M.Kes
NIK. 198409132014042001

ABSTRAK

Destianie, Elissa. 2018. ***Pengaruh Pemberian Kombinasi Monosodium Glutamat (MSG dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih (*Rattus novergicus*)***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nia Kurnianingsih, M.Biomed (2) Miftahul Jannah, SST, M.Keb.

Faktor nutrisi dapat mempengaruhi kesehatan reproduksi terutama fertilitas. Penelitian mengenai konsumsi MSG dan diet tinggi lemak yang berlebih terbukti dapat berpengaruh negatif pada organ reproduksi dan menyebabkan infertilitas. Penelitian lain membuktikan bahwa pemberian MSG dengan dosis rendah tidak berpengaruh negatif secara nyata terhadap organ reproduksi. Konsumsi MSG bersamaan dengan diet tinggi lemak terbukti meningkatkan kadar lemak total, tetapi belum terbukti memberikan efek negatif pada sistem reproduksi terutama endometrium. Maka dari itu, tujuan dari penelitian ini adalah melihat pengaruh kombinasi MSG dengan dosis yang disesuaikan dengan rata-rata konsumsi harian manusia dan diet tinggi lemak terhadap ketebalan endometrium. Penelitian ini dilakukan pada tikus putih *Rattus novergicus* betina dengan usia 6-8 minggu dan berat 140-200 gram. Penelitian dilakukan selama 56 hari terdiri dari 6 kelompok yaitu kontrol negatif, K(+1) DTL, K(+2) MSG 0,7mg/gram BB, P1 DTL+MSG 0,05mg/gram BB, P2 DTL+MSG 0,20mg/gram BB, P3 DTL+MSG 0,35 mg/gram BB. Pembedahan tikus dilakukan pada hari ke 57-61 saat fase proestrus. Hasil uji *one way* ANOVA, rerata ketebalan endometrium ($p=0,045$) pada kelompok yang diberikan kombinasi MSG dan DTL menurun secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif. Penurunan yang signifikan juga terjadi pada perbandingan ketebalan endometrium kelompok kombinasi MSG dan DTL terhadap kelompok kontrol positif diet tinggi lemak (K+1) dan MSG 0,7mg/gram BB (K+2). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian kombinasi MSG dan diet tinggi lemak berakibat pada penurunan ketebalan endometrium.

Kata kunci: MSG, diet tinggi lemak, ketebalan endometrium

ABSTRACT

Destianie, Elissa. 2018. *The Effect of MSG and High-Fat Diet Combination on Endometrial Thickness of White Rat (Rattus novergicus)*. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Nia Kurnianingsih, M.Biomed (2) Miftahul Jannah, SST, M.Keb.

Nutritional factors can affect reproductive health, include fertility. Study about the consumption of MSG and excessive high-fat diet can negatively affect the reproductive organs and cause infertility has been proven. Other studies declared that the administration of MSG with low doses not affect the organs negatively. Consumption of MSG and high-fat diet combination increase total fat, but study about the direct effect of administration high-fat diet and MSG to reproduction system especially endometrium has not been proven. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of high-fat diet and MSG with a dose adjusted by the average daily consumption of humans on endometrial thickness. This study was conducted on female white rat (*Rattus novergicus*) age 6-8 weeks and weight 140-200 gram. This 56-day study divided into six groups: 1) negative control, 2) K (+1): HFD, 3) K(+2): MSG 0,7 mg/gram BB, 4) P1: HFD+MSG 0,05 mg/gram BB, 5) P2: HFD+MSG 0,20 mg/gram BB, and 6) P3: HFD+MSG 0,35 mg/gram BB. Rats dissection were conducted on day 56-61 during proestrus phase. Results of a one-way ANOVA showed that there were significant reduction of endometrial thickness between combination of MSG and HFD administration group with negatif control group ($p=0,045$). Significant result on endometrial thickness also occurred in comparison of group combination of MSG and HFD to the positive control group (K+1) high-fat diet administration and (K+2) MSG 0,7 mg/gram BB administration ($p=0,015$). The results of this study proved that administration of a combination of MSG and high-fat diet affect endometrial thickness depression.

Key words: MSG, high fat diet, endometrium thickness

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Infertilitas merupakan ketidakmampuan pasangan untuk menghasilkan keturunan dalam rentang waktu 12 bulan setelah melakukan koitus yang sering dan tidak menggunakan kontrasepsi (Heffner, 2005). Menurut evaluasi *World Health Organization* (WHO) dari *Demographic and Health Surveys* (DHS) pada tahun 2004, diperkirakan lebih dari 186 juta wanita usia subur di negara berkembang yang sudah menikah mengalami infertilitas (WHO, 2004). Sebuah penelitian juga mengatakan pada tahun 2010, 48.5 juta pasangan di dunia tidak dapat hamil dan melahirkan anak. Penelitian tersebut menemukan 1.9% wanita usia 20-44 tahun tidak dapat hamil dan melahirkan anak untuk pertama kalinya dan 10.5% wanita yang telah memiliki anak sebelumnya tetapi tidak bisa hamil dan melahirkan anak lagi. Pola nutrisi, merupakan faktor penting yang dapat berpengaruh terhadap status kesehatan reproduksi baik pada pria maupun wanita (Sharma *et al.*, 2013). Pola nutrisi kurang baik yang dapat berpengaruh pada infertilitas diantaranya konsumsi makanan yang mengandung monosodium glutamat (MSG) dan diet tinggi lemak (Mascarenhas *et al.*, 2012).

Monosodium glutamat (MSG) merupakan zat aditif kontroversial yang sering digunakan penyedap rasa beberapa makanan baik di restoran, industri makanan, bahkan masakan rumah. MSG lebih dikenal oleh masyarakat dengan sebutan micin atau vetsin yang dijual di toko-toko eceran dengan berbagai nama dagang dan dikenal juga dengan istilah produk pembangkit cita rasa (Winarno, 2004). Melalui stimulasinya dari reseptor *orosensory* dan meningkatkan

palatabilitas makanan, MSG dapat meningkatkan nafsu makan sehingga asupan makanan juga meningkat dan memungkinkan menyebabkan kelebihan berat badan (Yeomans *et al.*, 2017; Igwebuike *et al.*, 2010). Penggunaan MSG di dunia dari tahun 1995 hingga 2007 meningkat hingga 250% (Boutry *et al.*, 2010). Menurut John E. (1990) karena tidak semua produk makanan mencantumkan kadar MSG yang terdapat di dalamnya, maka sulit diketahui secara pasti berapa jumlah konsumsi MSG oleh seseorang per harinya. Konsumsi MSG rata-rata per orang di Indonesia adalah 0,12 kg per tahun (Winarno, 2004). Penelitian yang dilakukan pada tahun 2012 di kota Bogor mengenai penggunaan MSG pada penduduk kota dengan penduduk desa menunjukkan bahwa lebih dari setengah responden di kota (78.1%) maupun desa (84.4%) menggunakan MSG (Murdiana, 2012). Menurut laporan hasil riset kesehatan dasar (RISKESDAS) pada tahun 2013, kebiasaan konsumsi penyedap mencapai 77.3% pada penduduk dengan umur ≥ 10 tahun.

Monosodium glutamat (MSG) memberi efek negatif ketika dikonsumsi berlebih, salah satunya terhadap organ reproduksi wanita yaitu uterus (Mondal *et al.*, 2016). Sebuah penelitian pada tikus albino betina menunjukkan reduksi komparatif ketebalan endometrium dan hilangnya kelenjar endometrium berkaitan dengan hiperplasia selular dan vakuolisasi sel (El-Fattah *et al.*, 2016). Menurut Dehbashi S. (2003) endometrium yang tipis dapat berpengaruh pada ketidakmampuan untuk menerima kehamilan meskipun ovulasi dan fertilisasi terjadi, karena endometrium tidak cukup tebal untuk blastosis berimplantasi.

Berlawanan dengan hal tersebut, sebuah penelitian pada tahun 2014 menunjukkan bahwa efek MSG menyebabkan peningkatan kadar estrogen dan progesteron pada tikus *Sprague Dawley* betina (Zia *et al.*, 2014). Peningkatan

kadar estrogen yang tinggi dapat menyebabkan fibroid pada sel-sel uterus. Pada fibroid, hormon estrogen merangsang proliferasi dan hipertrofi sel uterus (Obochi *et al.*, 2009).

Selain Monosodium Glutamat (MSG), komponen makanan yang sering dikonsumsi sebagian besar masyarakat di Indonesia yaitu makanan yang mengandung lemak dan kolesterol. Sebuah penelitian oleh Kamsu S dan Purwastyastuti menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsumsi makanan yang berlemak di Indonesia meningkat secara signifikan dari 7.6% di tahun 1993 menjadi 10.2% di tahun 2002 (Kodariah, 2013).

Mengonsumsi makanan berkolesterol tinggi dan berlemak dapat mencetuskan obesitas dan mempengaruhi kualitas reproduksi (Winarto *et al.*, 2014). Dikutip dari Fernandez (2011) bahwa lemak tubuh memiliki peranan dalam pembentukan estradiol. Hormon estradiol sendiri berpengaruh terhadap ketebalan endometrium (Falcone, 2007).

Konsumsi kolesterol yang tinggi berdampak pada peningkatan kadar serum *thyroid-stimulating hormone* (TSH), *luteinizing hormone* (LH), dan *follicle-stimulating hormone* (FSH) (J. Yang *et al.*, 2016). Penelitian lain pada tikus yang diberikan *diet-induced obese* (DIO) dan *diet-resistant* (DR) menunjukkan bahwa konsumsi diet tinggi lemak menyebabkan meningkatnya kadar leptin, penurunan LH, dan estradiol (Balasubramanian *et al.*, 2012).

Konsumsi MSG yang dibarengi diet tinggi lemak juga berbahaya bagi kesehatan manusia. Salah satu makanan yang mengandung MSG sekaligus lemak yaitu *junk food*. Makanan yang termasuk *junk food* yaitu permen, *fast food* yang digoreng, keripik, *dessert* manis, mie instan (Kaur *et al.*, 2014). Keripik mengandung 33% lemak total dan 2,3 gram sodium. Mie instan mengandung

14,1% lemak total dan 2,7 gram sodium (Johnson *et al.*, 2012). Standar rekomendasi WHO yaitu <2 gram konsumsi sodium dan 20-35% lemak per hari untuk wanita dewasa (WHO, 2012). Konsumsi *junk food* dari tahun 1999 hingga 2008 meningkat dari 26,61% menjadi 32,76% (Vogli *et al.*, 2014). Riset yang dilakukan di United States menunjukkan bahwa penduduk US yang berada di kelas ekonomi paling rendah memakan *junk food* paling tidak sekali dalam tiga minggu sebanyak 80,6%, kalangan menengah 84,3-85%, dan kalangan atas sebanyak 74,6 % (Zagorsky *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan pada 568 mahasiswa menunjukkan sebanyak 58% wanita paling tidak mengonsumsi *junk food* untuk makan siang paling tidak satu kali dalam seminggu (Kayisoglu *et al.*, 2014). Belum ada penelitian mengenai efek kombinasi MSG dan diet tinggi lemak terhadap endometrium. Akan tetapi, Adnyana *et al.* (2016) membuktikan terdapat peningkatan kadar lemak total pada tubuh tikus yang diberikan kombinasi MSG dan diet tinggi lemak.

Hasil dari beberapa penelitian baik terhadap diet tinggi lemak maupun MSG menunjukkan adanya pengaruh terhadap sistem reproduksi wanita. Melihat perbedaan hasil yang masih saling kontroversial dari penelitian-penelitian sebelumnya mengenai efek MSG dan diet tinggi lemak terhadap sistem reproduksi wanita, tingginya konsumsi makanan yang mengandung MSG sekaligus diet tinggi lemak yang berdasarkan bukti penelitian, serta belum adanya penelitian mengenai efek kombinasi MSG dan diet tinggi lemak terhadap endometrium yang memungkinkan memberikan efek negatif yang lebih buruk dibandingkan dengan pemberian MSG dosis toksik atau diet tinggi lemak saja, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kombinasi MSG dan diet tinggi lemak terhadap organ reproduksi terutama ketebalan

endometrium pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) betina. Endometrium yang memiliki ketebalan kurang dari rata-rata merupakan salah satu faktor infertilitas karena endometrium tidak cukup kuat menopang zigot untuk berimplantasi (Heffner, 2005).

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian kombinasi MSG dan diet tinggi lemak terhadap ketebalan endometrium pada tikus putih (*Rattus novergicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi MSG dan diet tinggi lemak terhadap ketebalan endometrium pada tikus putih (*Rattus novergicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Menganalisa pengaruh perbedaan dosis MSG yang dikombinasikan dengan diet tinggi lemak terhadap ketebalan endometrium.

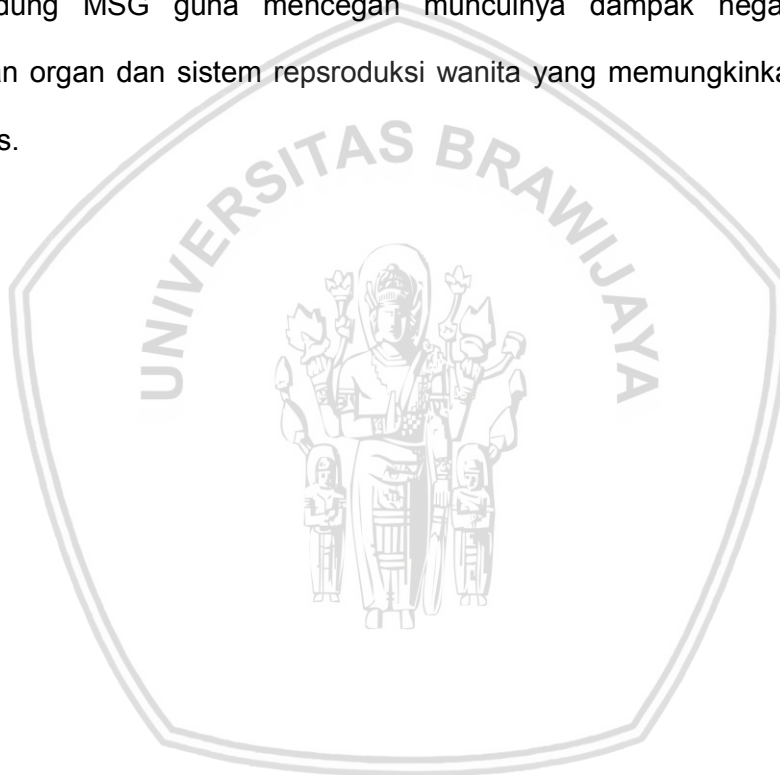
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Menjadi landasan penelitian selanjutnya mengenai efek mengkonsumsi makanan yang mengandung diet tinggi lemak dan MSG terhadap organ reproduksi wanita.
2. Mengembangkan ilmu kebidanan mengenai efek konsumsi makanan yang mengandung diet tinggi lemak dan msg terhadap organ reproduksi khususnya endometrium yang dapat berpengaruh pada infertilitas.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dengan adanya penelitian ini diharapkan bidan dapat menambah wawasan ilmunya dan dapat memberikan KIE (Komunikasi, Edukasi, dan Informasi) yang tepat terhadap wanita khususnya wanita usia subur untuk dapat menjaga pola makan dan memperhatikan asupan nutrisi terutama makanan dengan kandungan lemak dan kolesterol tinggi serta makanan yang mengandung MSG guna mencegah munculnya dampak negatif terhadap gangguan organ dan sistem reproduksi wanita yang memungkinkan terjadinya infertilitas.

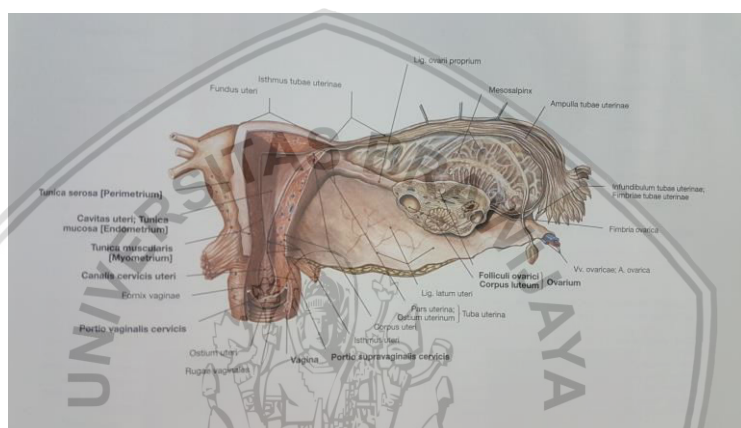


BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Endometrium

2.1.1 Anatomi dan Histologi



Gambar 2.1 Uterus, Vagina, dan Tuba uterina (Paulsen *et al.*, 2014)

Uterus merupakan organ yang terdiri dari suatu badan atau korpus yang terletak di atas penyempitan rongga uterus dan suatu struktur silindris di bawah (serviks) yang terletak di bawah orifisium internum uteri. Uterus adalah organ yang memiliki otot yang kuat dengan ukuran panjang 7 cm, lebar 4 cm, dan ketebalan 2,5 cm. Pada setiap sisi dari uterus terdapat dua buah dinding ligamen yang terletak antara rektum dan kandung kemih. Ligamentum tersebut menyangga uterus sehingga posisi uterus dapat bertahan dengan baik (Janquiera, 2007).

Uterus terdiri atas lapisan endometrium yang terdiri dari epitel dan lamina propia yang mengandung kelenjar tubular simpleks. Sel-sel epitel pelapisnya merupakan gabungan selapis sel-sel silindris sekretoris dan sel

bersilia. Jaringan ikat lamina propia kaya akan fibroblast dan mengandung banyak substansi dasar. Serat jaringan ikatnya terutama berasal dari kolagen tipe II (Janquiera, 2007).

Endometrium dilapisi sel epitel kolumnar bersilia dengan kelenjar sekresi mukosa yang membentuk invaginasi ke dalam stroma selular dan jaringan yang banyak mengandung pembuluh darah (Snell, 2012).

Endometrium (mukosa), yang melekat erat pada miometrium di bawahnya, merupakan sasaran perubahan sesuai daur sekresi pada ovarium. Perubahan ini berpuncak dengan kerusakan sebagian mukosa yang pada akhirnya terjadi menstruasi. Uterus dilapisi epitel selapis silindris dengan kelompok sel bersilia. Kelenjar rahim memenuhi seluruh tebal mukosa mulai dari permukaan. Kelenjar tersebut merupakan kelenjar simpleks yang mungkin bercabang pada ujungnya dan satu sama lain dipisahkan oleh stroma jaringan ikat. Sel-sel itu bermukim di dalam jejaring serat retikulin yang memadat di bawah epitel untuk membentuk membran basal (Leeson *et al.*, 1996).

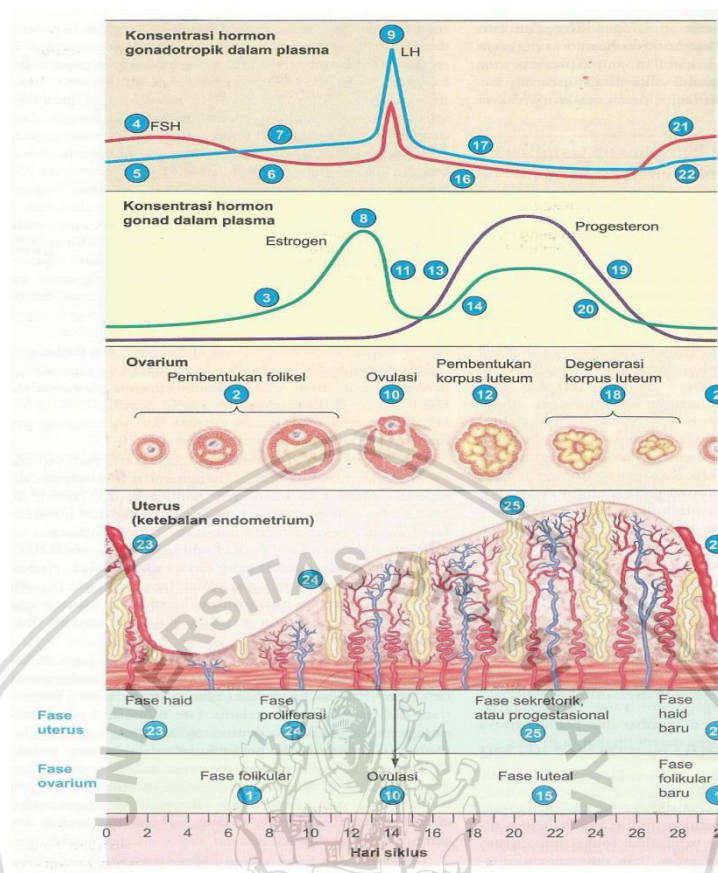
Cabang-cabang arteri uterus menyelusup lapisan tengah miometrium dan dari pembuluh ini yang disebut arteri arkuata, dipercabangkan dua sistem arteri yaitu satu sistem mengalirkan darah ke lapisan permukaan miometrium dan sistem yang lain mengalirkan darah ke sisanya yang kemudian bercabang menjadi dua perangkat pembuluh darah bagi endometrium (yang satu mengalirkan darah untuk bagian basal endometrium dan yang lainnya menyebar membentuk jejaring kapiler yang luas mengalir pada endometrium. Pembuluh yang terakhir berjalur spiral sehingga disebut arteri ulir atau arteri spiral (Leeson *et al.*, 1996).

Vena di dalam endometrium berdinding tipis dan membentuk jejaring luas. Pembuluh yang besar didapatkan di dalam lapisan tengah (vaskular) miometrium (Leeson *et al.*, 1996).

Lapisan endometrium dibagi menjadi dua yaitu:

- 1) Lapisan fungsional yang merupakan bagian tebal endometrium
- 2) Lapisan basal yang berdekatan dengan miometrium. Lapisan ini mengandung lamina propia dan bagian awal kelenjar uterus dan berperan sebagai bahan regenerasi dari lapisan fungsional dan akan tetap bertahan pada fase menstruasi (Claude Gompel, 2000).

Stimulasi estrogen dikaitkan dengan pertumbuhan dan proliferasi endometrium, sedangkan progesteron diproduksi oleh korpus luteum setelah ovulasi menghambat proliferasi dan menstimulasi sekresi di kelenjar dan juga perubahan residual di stroma (Claude Gompel, 2000).



Gambar 2.2 Perubahan Pada Ovarium dan Endometrium Selama Siklus Menstruasi (Sherwood, 2011)

2.1.2 Perubahan Siklis pada Endometrium

Endometrium mengalami perubahan berkala mulai dari masa pubertas dan diakhiri dengan menopause. Dikenal empat tahap peristiwanya berlangsung terus-menerus dan setiap tahap berangsur menuju tahap berikutnya sebagai berikut:

1. Tahap haid atau menstruasi, yang ditandai dengan adanya darah haid keluar.
2. Tahap proliferasi atau folikular, yang seiring dengan perkembangan folikel dan sekresi estrogen.

3. Tahap progestasi atau luteal, biasanya dihubungkan dengan korpus luteum yang aktif .
4. Tahap iskemik atau pramenstruasi, saat terjadi pemutusan aliran darah di dalam arteri spiral (Leeson *et al.*, 1996).

Fase uterus:

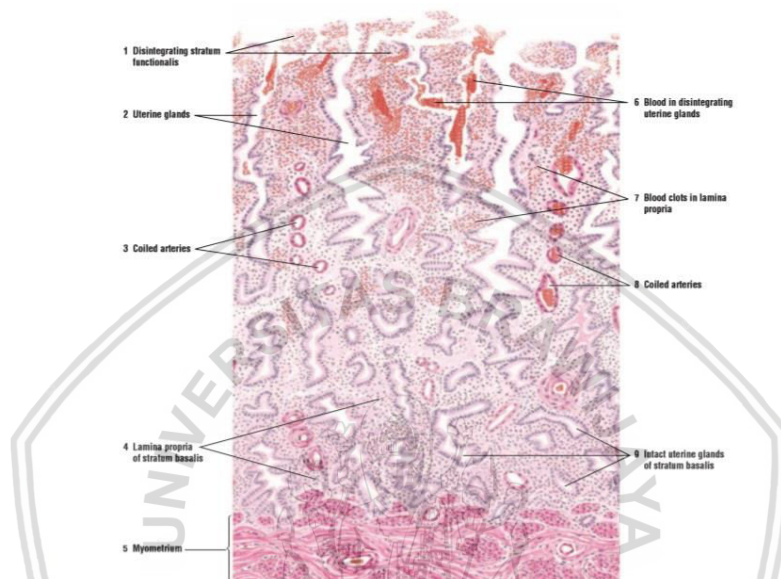
1. Fase menstruasi

Fase menstruasi ditandai dengan pengeluaran darah dan sisa endometrium dari vagina. Sewaktu korpus luteum berdegenerasi karena tidak terjadi fertilisasi dan implantasi ovum yang dibebaskan selama siklus sebelumnya, kadar progesteron dan estrogen darah turun tajam. Karena efek akhir progesteron dan estrogen adalah mempersiapkan endometrium untuk implantasi ovum yang dibuahi maka terhentinya sekresi kedua hormon ini menyebabkan lapisan dalam uterus yang kaya vaskular dan nutrisi ini kehilangan hormon penunjangnya (Sherwood. 2011).

Sebagian besar lapisan dalam uterus terlepas selama haid kecuali sebuah lapisan dalam yang tipis berupa sel epitel dan kelenjar, yang menjadi asal regenerasi endometrium. Prostaglandin uterus yang sama juga merangsang kontraksi ritmik ringan miometrium uterus. Kontraksi ini membantu mengeluarkan darah dan sisa endometrium dari rongga uterus keluar melalui vagina sebagai darah haid (Sherwood. 2011).

Lapisan fungsional nekrosis dan terkelupas. Setelah beberapa jam, arteri spiral melonggar, dindingnya yang dekat permukaan pecah dan darah keluar berbaur dengan getah kelenjar dan jaringan endometrium yang mati (nekrosis). Sisa jaringan terlepas dan terbuang. Darah merembes dari vena yang terpanjang akibat pengelupasan. Jadi, darah menstruasi mengandung darah arteri dan vena,

sel epitel dan stroma yang nekrosis dan getah kelenjar. Akhirnya seluruh lapisan fungsional endometrium habis dan tersisa permukaan yang kasar. Lapisan basal tersisa utuh, sel epitelnya keluar dari ujung kelenjar, dan begitu haid selesai, segera memperbarui epitel permukaan yang hilang (Leeson *et al.*, 1996).

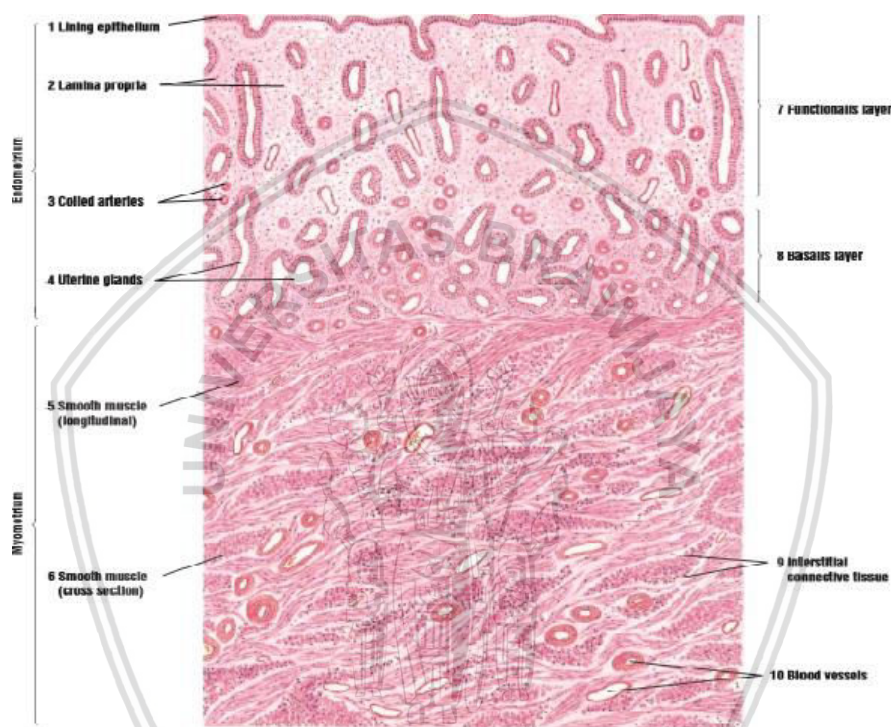


Gambar 2.3 Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Menstruasi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (Eroschenko, 2010)

2. Fase proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari ke 5 sampai ke 14 siklus menstruasi dan ditandai oleh regenerasi cepat endometrium yang tipis setelah haid. Sel epitel sisa kelenjar berangsur menutupi permukaan mukosa yang terkelupas. Mitosis banyak terjadi pada sel kelenjar dan stroma endometrium. Mukosa menebal dari ketebalan 1 mm atau lebih menjadi 3 sampai 5 mm. Penebalan ini berbarengan dengan perkembangan folikel ovarium dan sekresi estrogen. Semua kelenjar berproliferasi, memanjang dengan cepat dan berhimpitan. Peremajaan lamina propia terjadi akibat kegiatan mitosis sel stroma. Menjelang akhir tahap proliferasi lumen kelenjar melebar dan dindingnya menggelombang. Glikogen berkumpul di bagian basal sel dan yang disekresikan hanya lendir

encer. Arteri spiral tumbuh ke dalam jaringan yang sedang beregenerasi tetapi tidak dijumpai pada 1/3 permukaan endometrium yang hanya mempunyai kapiler dan venula. Fase proliferaatif yang didominasi oleh estrogen ini berlangsung dari akhir haid hingga ovulasi. Kadar puncak estrogen memicu lonjakan LH yang menjadi penyebab ovulasi (Leeson *et al.*, 1996; Sherwood, 2011).

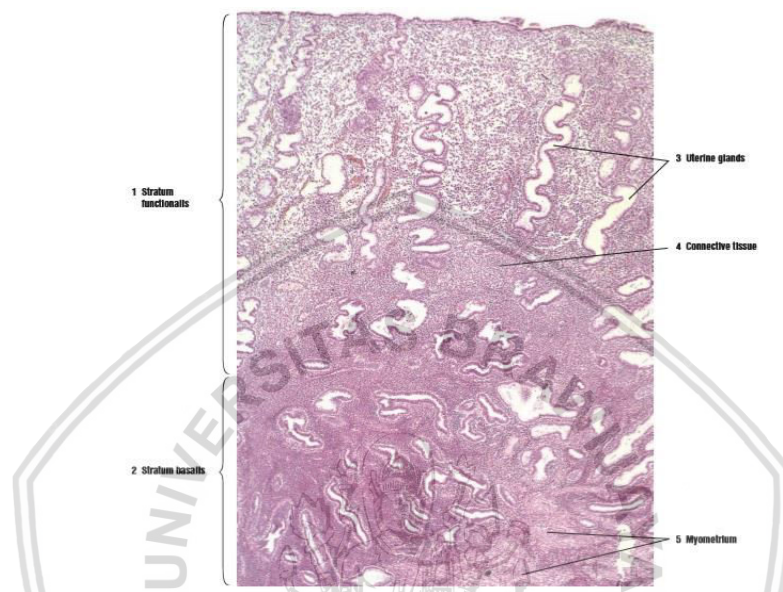


Gambar 2.4 Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Proliferasi dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (Eroschenko, 2010)

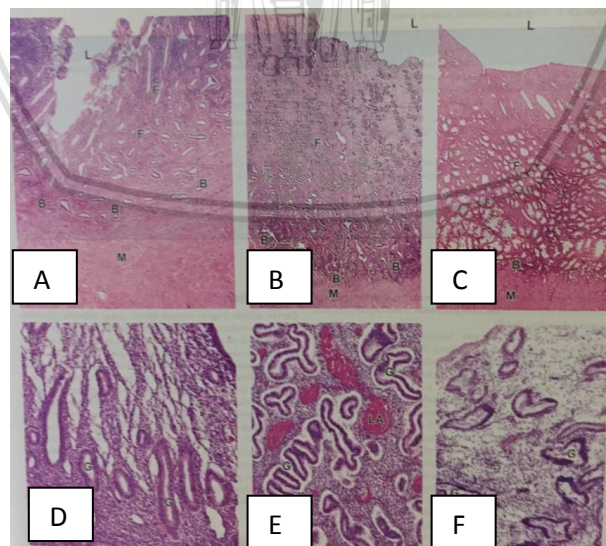
3. Fase Sekretorik

Fase ini terjadi akibat pembentukan korpus luteum (setelah ovulasi) yang menyebabkan sekresi progesteron dan estrogen. Progesteron mengubah endometrium tebal yang telah dipersiapkan estrogen menjadi jaringan kaya vaskular dan glikogen. Periode ini disebut fase sekretorik, karena kelenjar endometrium aktif mengeluarkan glikogen, atau fase progestasional (“sebelum kehamilan”), merujuk kepada lapisan subur endometrium yang mampu

menopang kehidupan janin. Jika pembuahan dan implantasi tidak terjadi maka korpus luteum berdegenerasi dan fase folikular dan siklus menstruasi baru akan dimulai kembali (Sherwood, 2011).



Gambar 2.5 Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Sekretori (Luteal) dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (Eroschenko, 2010)



Gambar 2.6 Gambaran Histologi Dinding Uterus Fase Proliferasi (A dan D), Sekretoris (B dan E), dan Premenstruasi (C dan F) (Mescher, 2011)

Fase ovarium:

1. Fase Folikular

Hari pertama perdarahan menstruasi ditetapkan sebagai hari pertama fase folikular. Selama 4-5 hari pertama fase ini, perkembangan folikel ovarium awal ditandai oleh proliferasi dan aktivitas aromatase sel granulosa yang diinduksi oleh FSH. Sel teka pada folikel yang berkembang menghasilkan prekursor androgen. Prekursor ini dikonversi menjadi estradiol dalam sel granulosa yang berdekatan sehingga kadar estradiol meningkat. FSH menginduksi sintesis reseptor FSH tambahan pada sel granulosa. FSH juga menstimulasi sintesis reseptor LH yang baru pada sel granulosa yang kemudian memulai respons LH. Selama fase folikular tengah hingga akhir, kadar estradiol dan inhibin B yang terus meningkat dalam sirkulasi akan menekan sekresi FSH, sehingga mencegah pengambilan folikel yang baru. Kadar estrogen dalam sirkulasi yang sangat tinggi dan terus menerus menyebabkan peningkatan eksponensial pada sekresi LH. Kadar estrogen yang tinggi ini menyebabkan pertumbuhan jaringan endometrium yang melapisi uterus. Perubahan pada endometrium ini dapat dibedakan secara mikroskopis dan disebut sebagai fase proliferasi (Heffner, 2005).

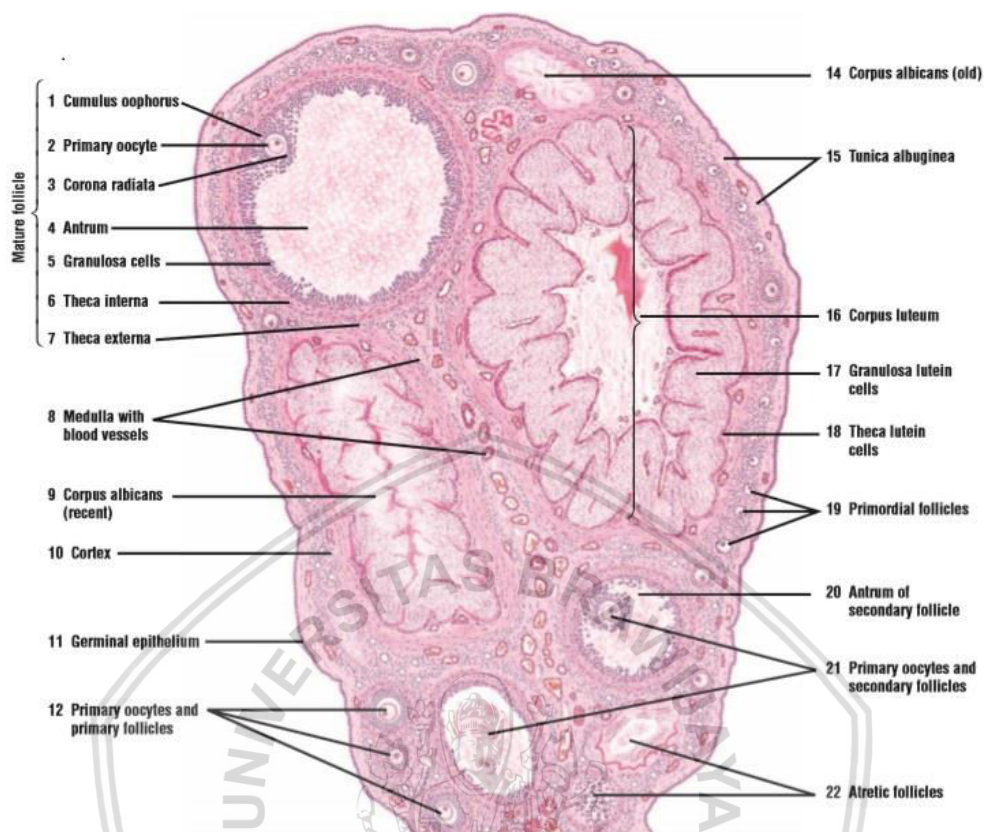
2. Fase Ovulatoir

Fase ini ditandai oleh lonjakan sekresi LH hipofisis yang memuncak saat dilepaskannya ovum yang matang melalui kapsul ovarium. Dua sampai tiga hari sebelum onset lonjakan LH, estradiol dan inhibin B yang bersirkulasi meningkat secara cepat dan bersamaan. Sintesis estradiol berada dalam keadaan maksimal dan tidak lagi bergantung pada FSH. Progesteron mulai meningkat saat lonjakan LH menginduksi sintesis progesteron oleh sel granulosa (Heffner, 2005).

Pada saat ovulasi, terjadi efek umpan balik positif estrogen sekresi LH pada pertengahan siklus yang terjadi di dalam sel-sel neuroendokrin hipotalamus dan gonadotropin hipofisis (Heffner, 2005).

3. Fase Luteal

Pada manusia, sel luteal membuat estrogen dan inhibin dalam jumlah besar. Konsentrasi estrogen yang bersirkulasi selama fase luteal berada dalam keadaan praovulatoir, dengan umpan balik positif. Ciri-ciri fase luteal adalah konsentrasi progesteron dan 17-hidroksiprogesteron yang tinggi yang disekresi oleh korpus luteum. Progesteron pada kadar yang meningkat ini mencegah estrogen untuk menstimulasi lonjakan LH yang lain dari hipofisis. Pada keadaan terdapatnya kombinasi antara tingginya konsentrasi progesteron dan estrogen, frekuensi denyut GnRH praovulatoir menurun, menyebabkan sekresi FSH dan LH hanya pada garis dasar (Heffner, 2005).



Gambar 2.7 Gambaran Histologi Ovarium (Eroschenko, 2010)

2.1.3 Hormon-Hormon yang Mempengaruhi Endometrium

2.1.3.1 Hipotalamus

Hipotalamus bekerja sebagai perantara kunci antara sistem saraf pusat dan kelenjar hipofisis melalui sintesis dan sekresi berbagai peptida yang mendorong pelepasan hormon adenohipofisis atau menghambat sekresinya. Hormon yang mendorong pelepasan atau menghambat ini disalurkan ke sel hipofisis anterior melalui pembuluh porta hipotalamiko-hipofisialis. Pembentukan dan sekresi sebagian besar hormon yang dihasilkan di hipofisis anterior diatur oleh *releasing hormone*. Pembentukan dan sekresi hormon pertumbuhan, prolaktin, dan golongan gonadotropin (FSH dan LH) diatur oleh *release-inhibiting hormones* (Marks *et al.*, 2000).

Nukleus arkuata di mediobasal hipotalamus dan daerah preoptik di hipotalamus anterior mensintesis *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH). GnRH disalurkan sepanjang akson-akson sel neuroendokrin khusus ini melalui eminensia mediana hipotalamus di mana GnRH dilepaskan ke sistem darah portal yang memvaskularisasi hipofisis anterior. Frekuensi pulsasi GnRH paling cepat pada fase folikular, sedikit lebih lambat pada fase luteal awal, dan paling lambat pada fase luteal lanjut dari siklus menstruasi. Secara umum, frekuensi pulsasi GnRH yang cepat membantu sekresi LH dan frekuensi pulsasi yang lambat membantu pelepasan FSH (Heffner, 2005).

2.1.3.2 Hormon Gonadotropin

1. Luteinizing Hormone (LH)

LH dilepaskan oleh dua pusat penting yaitu nukleus supraoptikum dan nukleus paraventricular. Nukleus supraoptikum sebagai pusat *cyclic gonadotropine releasing hormone* terangsang dengan konsentrasi tinggi dan mendadak sehingga mencetuskan ovulasi. Nukleus paraventricular sebagai pusat *tonic gonadotropin releasing hormone* terangsang oleh konsentrasi estradiol rendah. Saat ovulasi konsentrasi estradiol sangat rendah sehingga pusat ini akan mengeluarkan LH rendah untuk membentuk korpus luteum dan mempertahankannya selama 8 hari (Manuaba *et al.*, 2007). Di bawah pengaruh LH, korpus luteum mengeluarkan progesteron dan estrogen yang berpengaruh terhadap proliferasi endometrium. LH bekerja pada sel teka untuk merangsang produksi androgen (Sherwood, 2011).

2. Follicle-Stimulating Hormone (FSH)

FSH akan merangsang folikel primordial untuk berkembang menjadi matang dalam bentuk folikel *de graaf* dan bekerja untuk meningkatkan konversi

androgen teka (yang berasal dari sel teka dan berdifusi ke dalam sel granulosa) menjadi estrogen. Karena kadar basal FSH yang rendah sudah memadai untuk mendorong konversi akhir menjadi estrogen, maka laju sekresi estrogen oleh folikel yang bergantung pada kadar LH dalam darah terus meningkat selama fase folikular (Sherwood, 2011).

2.1.3.3 Progesteron

Sel teka di sekeliling folikel ovarium yang pecah diubah menjadi korpus luteum setelah ovulasi. Korpus luteum merespons stimulasi LH dengan memproduksi progesteron. LH meningkatkan ambilan kolesterol LDL (*low-density lipoprotein*) oleh sel korpus luteum melalui induksi reseptor LDL. Hal ini secara simultan menyebabkan konversi LDL menjadi progesteron dengan menginduksi dua kompleks enzim dengan laju terbatas yang penting untuk sekresi progesteron (Heffner, 2005).

Progesteron bekerja pada endometrium yang telah dipersiapkan oleh estrogen untuk mengubahnya menjadi lapisan yang dapat menunjang pertumbuhan ovum yang dibuahi dengan mendorong kelenjar endometrium mengeluarkan dan menyimpan glikogen dalam jumlah besar serta merangsang pertumbuhan besar-besaran pembuluh darah endometrium. Di bawah pengaruh progesteron, jaringan ikat endometrium menjadi longgar dan edematosa akibat akumulasi elektrolit dan air, memfasilitasi implantasi ovum yang dibuahi (Sherwood, 2011).

2.1.3.4 Estrogen

Estrogen dibentuk oleh sel-sel granulosa di dalam folikel ovarium melalui reaksi enzimatik. Kolesterol merupakan substrat utama pembentuk estrogen. Kolesterol berubah menjadi androstenedion yang kemudian diubah lagi menjadi

estron. Kolesterol juga berubah menjadi testosterone yang diubah lagi menjadi estradiol 17- β (Ganong, 2003).

Estrogen merangsang pertumbuhan miometrium dan endometrium serta menginduksi sintesis reseptor progesteron di endometrium. Estrogen mengontrol sekresi GnRH dan gonadotropin yaitu jika kadar progesteron rendah, akan menghambat sekresi sedangkan jika kadarnya tinggi akan menyebabkan lonjakan LH (Sherwood, 2011).

2.1.4 Infertilitas

Infertilitas adalah kurangnya kemampuan untuk hamil dan melahirkan seorang anak. Secara klinis, suatu pasangan diduga mengalami infertilitas jika tidak terjadi kehamilan setelah koitus yang sering dan tidak menggunakan kontrasepsi selama 12 bulan. Infertilitas berbeda dengan sterilitas, yang merupakan ketidakmampuan absolut atau *irreversible* untuk hamil (Heffner, 2005).

Pada wanita dikenal infertilitas primer atau infertilitas sekunder. Infertilitas primer yaitu apabila seorang wanita tersebut belum pernah hamil sebelumnya. Sedangkan infertilitas sekunder yaitu apabila seorang wanita pernah hamil dan melahirkan, tetapi kemudian menjadi sulit hamil (Sinsin, 2008).

Secara umum pasangan pria dan wanita yang melakukan hubungan seks satu kali pada masa subur mempunyai peluang untuk hamil yang tidak terlalu tinggi. Akan tetapi, apabila dilakukan secara berulang, kemungkinan hamilnya menjadi cukup tinggi. Penelitian menyebutkan bahwa dari 100 orang yang menikah, yang langsung hamil pada bulan pertama hanya 25 orang atau 25% dari total yang diteliti, dalam 3 bulan pertama sekitar 60% yang hamil dan dalam kurun waktu satu tahun 85% pasangan yang hamil (Sinsin, 2008).

Berbagai faktor berperan dalam terjadinya infertilitas. Penyakit yang mengenai wanita merupakan setengah dari pasangan infertil dan penyakit yang mengenai pria sepertiganya. Sekitar 10% pasangan mengalami gangguan baik pada pihak pria maupun wanita. Gangguan spesifik yang menyebabkan infertilitas adalah berbagai gangguan yang melibatkan setiap peristiwa fisiologis utama yang diperlukan untuk terjadinya kehamilan:

- 1) Produksi ovum yang sehat
- 2) Produksi spermatozoa yang sehat
- 3) Transportasi spermatozoa ke tempat fertilisasi
- 4) Transportasi zigot ke uterus untuk implantasi
- 5) Keberhasilan implantasi pada endometrium
- 6) Adanya kondisi-kondisi lain, seringkali masalah imunologis (Heffner, 2005).

Kelainan implantasi sebagai salah satu faktor penyebab terjadinya infertilitas mencakup sekelompok defek endometrium dan embrionik yang mempengaruhi hubungan yang kompleks antara kelainan-kelainan pada periode pascakonsepsi awal. Defisiensi fase luteal (*luteal phase deficiency*) merupakan kelainan endometrium yang banyak dibicarakan dan dapat secara langsung mempengaruhi implantasi. LPD menggambarkan kelainan maturasi endometrium yang menyebabkan subinfertilitas dan keguguran berulang. Pada LPD dengan etiologi dari ovarium, perkembangan folikel dan ovulasi yang abnormal menyebabkan defisiensi relatif pada produksi progesteron. Hal ini memperlambat atau mengurangi efek progesteron dalam mengubah endometrium menjadi organ sekretorik yang cocok untuk implantasi. Selain itu, tebal endometrium yang tidak cukup untuk zigot berimplantasi juga menjadi faktor pada kejadian infertilitas (Heffner, 2005).

2.2. Monosodium Glutamat (MSG)

2.2.1. Definisi

Dikutip dari Samuels (1999), monosodium l-glutamat (MSG), dalam dunia kimia dikenal dengan 2-amino pentane dioic atau 2-amino glutaric acid, biasa digunakan sebagai bahan penyedap makanan yang banyak digunakan terutama pada makanan tradisional di Asia. MSG mengandung 78% asam glutamat, 22% sodium dan air (Wahyuni *et al.*, 2014). Monosodium glutamat banyak ditemukan pada produk-produk makanan instan atau makanan olahan. Monosodium glutamat merupakan garam natrium dari glutamat yang apabila diurai akan menghasilkan natrium dan asam glutamat. Glutamat menimbulkan rasa sedap yang berbeda dari keempat rasa lainnya yaitu manis, asin, pahit, dan asam, sehingga disebut sebagai umami (Siagian *et al.*, 2014).

Glutamat merupakan salah satu asam amino yang paling banyak terdapat di alam. Asam amino ini merupakan salah satu komponen utama protein dan peptida, serta terdapat pada berbagai jaringan. *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat menyatakan bahwa MSG aman untuk digunakan, sementara sejumlah penelitian menunjukkan bahwa MSG dapat bersifat toksik dan menyebabkan kerusakan pada organ-organ tubuh (Siagian *et al.*, 2014).

2.2.2. Metabolisme Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat (MSG) yang dikonsumsi akan larut dalam air, ketika memasuki mulut akan larut dalam air ludah, kemudian berdisosiasi membentuk asam glutamat dan diabsorpsi melalui usus sebelum memasuki sirkulasi porta ke hepar. Asam glutamat merupakan asam amino yang kurang lebih 17% dibutuhkan oleh tubuh sebagai penyusun protein. Tubuh manusia juga menghasilkan glutamat bebas dengan rata-rata 50 gram tiap harinya. Jumlah

glutamat bebas yang beredar, kurang lebih 10 gram diperlukan oleh tubuh dengan distribusi 6 gram pada otot, 0,04 gram dalam darah, dan 2,3 gram dalam otak, hepar dan ginjal masing-masing memerlukan kurang lebih sebesar 0,7 gram (Ault, 2004 *dalam* Rakhma, 2015).

Asam glutamat ditransminasikan dengan piruvat menjadi alanin di dalam hepar. Alanin diubah oleh asam amino dikarboksilat menjadi ketoglutarat atau oksaloasetat. Proses ini mengakibatkan berkurangnya jumlah asam amino dikarboksilat yang dilepas ke dalam darah porta. Asam glutamat dan asam aspartat yang lolos dari metabolisme dalam mukosa dibawa ke hati melalui vena porta. Sebagian asam glutamat dan aspartat dikonversikan menjadi glukosa dan laktat sebelum masuk ke pembuluh darah perifer (Maulida *et al.*, 2014 *dalam* Rakhma, 2015).

MSG yang dimetabolisme dalam bentuk glutamat akan didistribusikan sebagai asam amino non esensial yang menyebar luas di dalam jaringan tubuh dengan 57% dari asam amino yang diabsorpsi akan diubah menjadi urea melalui hepar, 6% menjadi plasma protein, 23% absorbs asam amino melalui sirkulasi umum sebagai asam amino, dan 14% dalam hepar untuk disimpan sementara sebagai protein hepar (Maulida *et al.*, 2014 *dalam* Rakhma, 2015).

Hepar sendiri mempunyai kemampuan terbatas dalam metabolisme asam glutamat. Berdasarkan hasil penelitian, batas maksimal hepar untuk metabolisme msg adalah 30 mg/kg/hari dan tidak boleh diberikan dalam konsumsi dosis tinggi. Bila kadar glutamat melebihi kemampuan kapasitas hepar untuk metabolismenya, maka kadar glutamat pada plasma akan meningkat (Maulida *et al.*, 2014 *dalam* Rakhma, 2015).

2.2.3. Toksisitas Monosodium Glutamat

Hasil penelitian yang direkomendasikan oleh WHO pada sidang *Codex Alimentary Commision* (CAC) tahun 1970 dan rekomendasi dari Badan Pengawas Obat dan Makanan di Amerika Serikat menyebutkan bahwa MSG berupa makanan sehari-hari yang konsumsinya tidak boleh melebihi 6mg/kg berat badan manusia dewasa. Hidayati *et al* (2014) merekomendasikan dari hasil penelitiannya bahwa penggunaan yang dibolehkan tidak lebih dari 2 gram per hari.

Data dari hasil penelitian pada hewan, yang mana administrasi pemberian MSG menunjukkan model dari obesitas dengan gangguan toleransi glukosa dan resistensi insulin yang menyebabkan kekhawatiran terjadinya obesitas pada manusia yang menggunakan MSG dalam makanannya. Hipotesis yang lain mengatakan mekanisme pengaruh MSG terjadi pada metabolisme. Keterkaitan potensial antara MSG dan obesitas termasuk efek MSG pada keseimbangan energi dengan peningkatan palatabilitas makanan dan mengganggu kerja sinyal hipotalamus ke bawah yang mana dari aksi leptin (Husarova, 2013). Dasar obesitas yang diinduksi oleh MSG telah diteliti pada tikus berumur 19 minggu yang mana diberikan 2mg/g MSG injeksi subkutan pada hari ke 2 dan 4, dan injeksi 4 mg/g hari ke 6, 8, dan 10 (Konrad *et al.*, 2012).

MSG meningkatkan ekspresi mRNA dari interleukin-6, nekrosis tumor faktor alfa, resistin dan leptin dalam jaringan adiposa, meningkatkan tingkat insulin, resistin, dan leptin dalam serum dan juga mengganggu toleransi glukosa (Husarova, 2013).

Suatu penelitian menghipotesis ketika transaminasi hati menurun drastis, MSG dapat menginduksi kerusakan hati seperti pada steatohepatitis nonalkohol.

Hubungan perubahan hati dengan metabolisme jaringan adiposa pada steatohepatitis nonalkohol setelah konsumsi MSG ditunjukkan pada tikus berusia 32 minggu (Husarova, 2013).

MSG meningkatkan ekspresi beberapa gen yang terimplikasi dalam diferensiasi adiposa, mengelevasi serum asam lemak, trigliserida, insulin, dan sintesis empedu. Hipotesis dalam penelitian ini yaitu perkembangan dari resistensi insulin hepar bisa jadi konsekuensi dari deregulasi antara hati dan jaringan adiposa. Sesuai dengan hasil ini menemukan elevasi aminotransferase aspartate dan aminotransferase alanine pada tikus wistar jantan dewasa yang dipapar dengan 0,04 mg/kg dan 0,08 mg/kg MSG selama 42 hari, dengan perubahan degeneratif pada hati dan dilatasi pada vena pusat (Husarova, 2013).

Efek MSG pada sistem reproduksi didokumentasikan dalam jumlah yang lebih sedikit daripada efek-efek yang terjadi pada faktor lain. Penelitian pada tikus Albino Swiss betina yang diinjeksikan MSG (2 mg/g) pada periode perinatal yang sama (hari ke 2, 4, 6, 8, dan 10) menyebabkan meningkatnya jumlah folikel primer tanpa peningkatan jumlah folikel graffian di jaringan ovarium pada hari ke 75 (Husarova, 2013).

1.2.4 Hubungan MSG dengan Sistem Reproduksi Wanita

Efek MSG pada kadar estradiol (estrogen) menghubungkan ke aktivasi enzim, aromatase, yang mana mengkatalisasikonversi testosterone ke β -estradiol dan aromatisasi dari cincin A β -estradiol, yang meningkatkan aktivitas enzim yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan pada sintesis estradiol. Kadar estradiol yang tinggi memicu peningkatan proliferasi sel-sel fibroid (Obochi *et al.*, 2009).

MSG dapat merusak nukleus arkuata hipotalamus yang berdampak pada penurunan sekresi hormon pelepas gonadotropin. Hormon pelepas gonadotropin (GnRH), akan merangsang pengeluaran hormon FSH dan LH dari hipofisis anterior. Hormon FSH dan LH merangsang pertumbuhan praovulasi dan sekresi estrogen serta progesteron yang memiliki mekanisme umpan balik pada hipotalamus. Sehingga, jika nukleus arkuata hipotalamus rusak maka akan berakibat juga pada menurunnya pengeluaran hormon FSH dan LH baik secara langsung maupun tidak langsung akan memengaruhi sekresi hormon estrogen dan progesteron (Hidayati *et al.*, 2014).

Hormon estrogen mendorong perkembangan endometrium dan alat reproduksi wanita lainnya. Hormon progesteron merangsang perkembangan kelenjar uterus, mendorong untuk bersekresi dan membuat endometrium siap menerima implantasi embrio. Sehingga, apabila sekresi hormon estrogen dan progesteron terganggu, akan mempengaruhi organ reproduksi wanita, termasuk uterus yang mengakibatkan gangguan pada kelenjar endometrium dan ketebalan lapisan endometrium (Hidayati *et al.*, 2014).

Wahyuni *et al.* (2014) dalam hasil penelitiannya membuktikan bahwa glutamat menurunkan ekspresi reseptor α -estrogen secara signifikan sehingga proliferasi dan fase sekresi baik pada epitel maupun stroma endometrium.

2.3.Diet Tinggi Lemak

2.3.1. Definisi

Pola makan tinggi lemak diyakini merupakan penyebab utama terjadinya aterosklerosis melalui proses peningkatan LDL. LDL mudah teroksidasi oleh radikal bebas. LDL yang teroksidasi merupakan tahap awal terjadinya

aterosklerosis. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan, bersifat tidak stabil dan merusak sel dengan mengambil satu atom hidrogen dan molekul lain dalam tubuh. Radikal bebas terdapat dalam tubuh melalui metabolisme sehari-hari dan akan segera diubah menjadi substansi yang tidak berbahaya bagi tubuh yaitu air dan karbondioksida. Akan tetapi, apabila radikal bebas melebihi batas proteksi antioksidan kemudian bertemu dengan asam lemak tidak jenuh ganda maka akan terjadi peroksidasi lipid yang pada akhirnya akan menghasilkan senyawa aldehida salah satunya yaitu sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stress oksidatif. Diet tinggi lemak meningkatkan karotenoid, kolesterol, dan protein pada fraksi LDL (Kusumastuty, 2014).

Diet tinggi lemak dengan komposisi tinggi kolesterol, asam lemak jenuh seperti kuning telur dan lemak kambing akan berpengaruh terhadap peningkatan kadar lipid dalam darah, Kadar kolesterol dan kadar trigliserida dalam darah dipengaruhi asupan makanan. Kadar kolesterol total di dalam darah juga mempunyai keterkaitan yang bermakna terhadap kadar trigliserida di dalam darah yaitu apabila kadar kolesterol total >200 mg/dL, maka akan berisiko terhadap peningkatan kadar trigliserida (Niza *et al.*, 2015).

2.3.2. Toksisitas Diet Tinggi Lemak

Kecenderungan untuk mengonsumsi makanan berkolesterol tinggi dapat menyebabkan gangguan metabolisme lemak sehingga terjadi hiperkolesterolemia dan akan mengarah pada keadaan inflamasi kronis yang dianggap sebagai salah satu faktor risiko utama insiden aterosklerosis (Fatmawati *et al.*, 2012).

Konsumsi diet tinggi lemak dapat mengakibatkan dislipidemia yang merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar kolesterol HDL (Heriansyah, 2013).

LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam tubuh dapat menyebabkan aterogenesis melalui pembentukan LDL teroksidasi yang menyebabkan stress oksidatif dalam sel endotel. LDL teroksidasi ini terbentuk melalui ikatan antara LDL dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang terbentuk selama pembuatan ATP. Stress oksidatif kronis pada sel endotel menyebabkan aktivasi proses aterogenik yang ditandai dengan masuknya makrofag ke dalam jaringan sehingga terbentuk timbunan lemak dan berkontribusi dalam perkembangan patologi vaskuler (Fatmawati *et al.*, 2012).

Konsumsi diet tinggi lemak menyebabkan apoptosis neuron dan reduksi input sinaptik dalam nukleus arkuata dan hipotalamus lateral (Moraes *et al.*, 2009). Hipotalamus berperan penting dalam sekresi GnRH yang menyebabkan sekresi LH dan FSH (Balasubramanian *et al.*, 2012).

Ketika durasi konsumsi kolesterol bertambah, deposisi kolesterol meningkat secara bertahap di hipofisis. Secara histologis, sel basofilik, dan terutama tirotrof dan gonadotrof, menunjukkan peningkatan yang jelas pada area sel, serta peningkatan potensial dalam proporsi sel pituitari total. Ekspresi β -subunit TSH, FSH, dan LH yang mengendalikan spesifisitas dan aktivitas hormon, menunjukkan peningkatan yang sesuai (J. Yang *et al.*, 2016). Tingginya kadar LH menyebabkan kadar progesteron menjadi tinggi dan kadar FSH yang

meningkat juga menghasilkan kadar estrogen yang tinggi sehingga memungkinkan proliferasi endometrium meningkat (Parker *et al.*, 2004).

Sebuah penelitian menunjukkan peningkatan pada kadar leptin yang mana berkorelasi terbalik terhadap kadar estradiol. Sehingga diet tinggi lemak pada penelitian ini menurunkan kadar LH dan estradiol yang berpengaruh meningkatkan proliferasi dan pertumbuhan kelenjar-kelenjar endometrium (Balasubramanian *et al.*, 2012).

2.4 Hewan Coba

2.4.1 Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*)

Penelitian dengan menggunakan tikus galur wistar (*Rattus novergicus*) lebih banyak dilakukan oleh peneliti karena banyak yang menganggap aspek perilaku dan fisiologis tikus lebih relevan dengan manusia dan lebih mudah diamati, mudah dipelihara dibandingkan dengan mencit. Terdapat beberapa galur tikus yang dapat digunakan untuk percobaan yaitu wistar albino, Long-Evans, dan Sprague Dawley, namun yang sering digunakan dalam penelitian adalah tikus wistar albino (Widiartini *et al.*, 2013).

Terdapat beberapa alasan tikus digunakan sebagai hewan coba karena memiliki sifat-sifat yaitu memiliki daya adaptasi yang baik, fungsi dan bentuk organnya serta proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Tikus dipilih sebagai hewan coba karena penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, lama kebuntingan singkat, angka kelahiran tinggi, siklus estrus pendek dan karakteristik tiap fase siklus jelas. Hewan ini sebagian besar digunakan untuk penelitian yang bertujuan ilmiah

seperti pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, dan embriologi (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).



Gambar 2.8 Tikus *Rattus norvegicus* Galur Wistar (Akbar, 2010)

2.4.2 Sistem Reproduksi

Dinding uterus pada tikus wistar terdiri dari 3 lapisan yaitu membran serosa (Perimetrium), merupakan lapisan terluar yang membungkus uterus yang terdiri dari jaringan ikat. Miometrium merupakan lapisan ke dua yang terdiri dari otot polos yang mengandung pembuluh darah dan limpa. Sedangkan lapisan ketiga adalah endometrium merupakan tempat nidasi atau implantasi serta perkembangan embrio bagi tikus wistar yang bunting. Bagi tikus wistar yang tidak bunting endometrium merupakan selaput lendir yang mengandung kelenjar dan pembuluh darah. Ketebalan selaput lendir dan vaskularisasi pada endometrium bervariasi sesuai dengan perubahan-perubahan hormon ovarium yaitu estrogen, progesteron dan kehamilan. Variansi kepadatan atau jarak satu kelenjar dengan lainnya selama siklus estrus adalah sebagai berikut: Pada fase proestrus, selama pertumbuhan folikel ovarium, terjadi pertumbuhan dan perubahan dalam

endometrium, kelenjar-kelenjar uterus tumbuh memanjang. Pada fase estrus, sebagai akibat dari perubahan di dalam ovarium yakni terjadinya ovulasi, kelenjar uterus sederhana dan lurus. Selama fase metestrus, progesteron beraksi terhadap uterus, hal ini membuat endometrium bertambah tebal secara mencolok. Diameter dan panjang kelenjar meningkat secara cepat, menjadi bercabang-cabang dan berkelok-kelok. Pada permulaan fase diestrus endometrium masih memperlihatkan kegiatan yaitu, pertumbuhan kelenjar-kelenjar dari panjang hingga berkelok-kelok dan membentuk spiral. Tetapi pada akhir fase diestrus endometrium yang tadinya tebal semakin mengkerut, dengan kelenjar-kelenjar yang bertambah kecil (Akbar, 2010).

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga siklus estrus. Siklus estrus adalah siklus seksual pada mamalia bukan primata yang tidak menstruasi. Siklus estrus merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah laku seksual. Siklus estrus dapat dibagi menjadi empat stadium sebagai berikut :

1. Fase proestrus. Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel *de graaf* dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Akibatnya sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai tanda-tanda dorongan seksual pada hewan-hewan betina peliharaan. Perubahan fisiologis tersebut meliputi

pertumbuhan folikel, meningkatnya pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta peningkatan vaskularisasi dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak.

2. Fase estrus. Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel *de graaf* membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan ke arah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.
3. Fase metestrus. Metestrus adalah periode segera sesudah estrus di mana korpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulosa, folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan adenohypophysis. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh adenohypophysis sehingga menghambat pembentukan folikel *de graaf* yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakan 12 persiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada

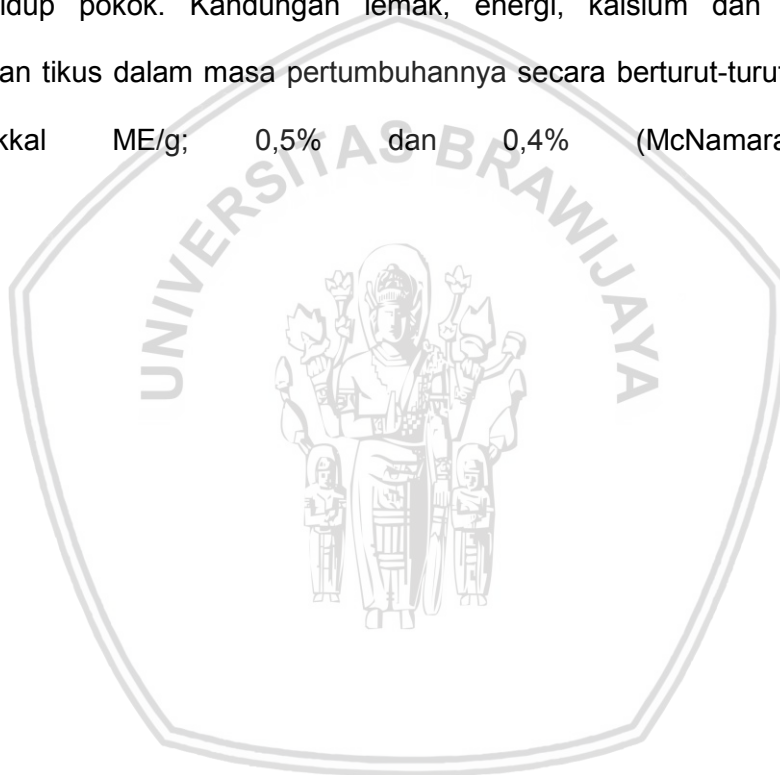
preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

4. Fase diestrus. Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak-ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Endometrium lebih menebal dan kelenjar-kelenjar berhipertrofi. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Pada akhir periode ini korpus luteum memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya beratrofi atau beregresi ke ukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Akbar, 2010).

2.4.3 Pakan Tikus

Kebutuhan pakan bagi seekor tikus putih setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya, jika pakan tersebut merupakan bahan kering dan meningkat sampai 15% jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Tikus putih dewasa makan setiap hari antara 12-20 g/kg BB. Bahan dasar makanan tikus dapat bervariasi, dengan komposisi protein 20-25% (akan tetapi hanya 12% jika protein lengkapnya berisi asam amino esensial dengan konsentrasi yang benar), lemak 5%, pati 45-50%, serat kasar kira-kira 5% dan abu 4-5% (Smith dan Mangkoewidjojo 1988). Makanan tikus juga harus mengandung vitamin A (4000 IU/kg), vitamin D (1000 IU/kg), alfa-tokoferol (30mg/kg), asam linoleat (3 g/kg), tiamin (4 mg/kg), riboflavin (3 mg/kg),

pantotenat (8 mg/kg), vitamin B 12 (50 µg/kg), biotin (10 µg/kg), piridoksin (40-300 µg/kg) dan kolin (1000 mg/kg) (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Tikus putih membutuhkan nutrien untuk hidup pokok sebesar 50 gram protein, 150 gram lemak dan 3,8 kkal ME/g energi, sedangkan untuk pertumbuhan sebesar 150 gram protein kasar, 50 gram lemak dan 4,1 kkal ME/g energy (NRC, 1995). Tikus dalam masa pertumbuhannya membutuhkan 12-13% protein dan 4-6% untuk hidup pokok. Kandungan lemak, energi, kalsium dan fosfor yang dibutuhkan tikus dalam masa pertumbuhannya secara berturut-turut adalah 5%; 3,8 kkal ME/g; 0,5% dan 0,4% (McNamara, 2006).

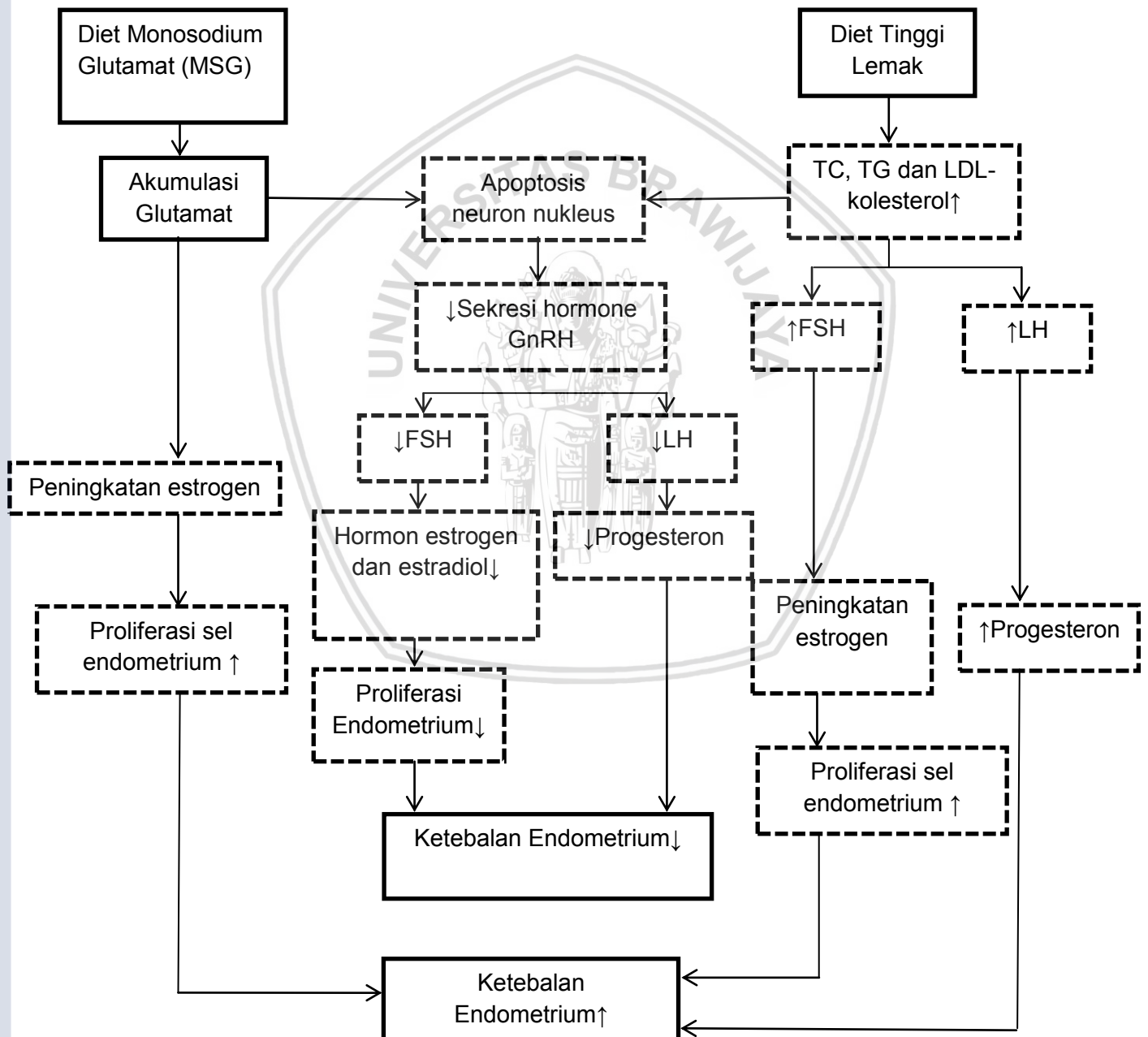




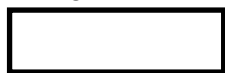
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

1.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



Yang diteliti



Yang tidak diteliti

Diet tinggi lemak menyebabkan kadar *total cholesterol* (TC), *trigliserida* (TG) dan LDL-kolesterol meningkat yang dapat menyebabkan apoptosis neuron nukleus arkuata yang berpengaruh terhadap penurunan sekresi hormon GnRH. Penurunan sekresi pada GnRH ini menyebabkan penurunan pada hormon FSH dan LH. Penurunan FSH menyebabkan penurunan pada hormon estrogen dan estradiol sehingga proliferasi sel endometrium menurun, sedangkan penurunan LH berakibat pada penurunan kadar progesteron. Penurunan proliferasi sel endometrium dan kadar progesteron ini dapat berakibat pada menurunnya ketebalan endometrium.

Diet MSG menyebabkan terjadinya akumulasi glutamat. Akumulasi glutamat menyebabkan terjadinya apoptosis neuron nukleus arkuata yang berakibat pada menurunnya sekresi hormon GnRH. Penurunan sekresi hormon GnRH mempengaruhi menurunnya kadar FSH dan LH. Kadar FSH yang menurun menyebabkan rendahnya kadar hormon estrogen dan estradiol, sehingga proliferasi endometrium juga berkurang. Penurunan kadar LH menyebabkan kadar progesteron ikut menurun. Proliferasi endometrium yang berkurang atau kadar progesteron yang rendah dapat mengakibatkan ketebalan endometrium berkurang.

Terdapat efek lain yang terjadi pada konsumsi MSG dan diet tinggi lemak. Pada diet MSG dapat terjadi akumulasi glutamat yang menyebabkan aktivasi enzim aromatase yang mengkatalisasi konversi testosteron menjadi estradiol

sehingga sistensis estrogen meningkat (Zia *et al.*, 2014). Peningkatan estrogen yang menyebabkan proliferasi sel endometrium meningkat, sehingga dapat berakibat pada meningkatnya ketebalan endometrium.

Pada konsumsi diet tinggi lemak dapat terjadi peningkatan kadar FSH dan LH jika durasi pemberiannya lebih lama sehingga deposisi meningkat secara umum pada pituitari yang mana berfungsi memproduksi FSH dan LH tepatnya di sel *basophil pituitary anterior*. Peningkatan kadar FSH berpengaruh pada meningkatnya kadar estrogen yang dapat meningkatkan proliferasi sel dan LH yang dapat meningkatkan kadar progesteron. Kedua faktor tersebut dapat memicu meningkatnya ketebalan endometrium.

3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat penurunan ketebalan endometrium tikus wistar pada pemberian kombinasi MSG dan diet tinggi lemak

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode rancangan *Randomized Post Test Controlled Group Design*, untuk mengetahui perbedaan ketebalan endometrium pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) betina yang dipapar MSG dan diet tinggi lemak.

4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) betina berumur 6-8 minggu dengan berat 140-200 gram. Jumlah pengulangan (p) pada setiap perlakuan (n) dihitung berdasarkan rumus (Solimun, 2001):

$$p(n-1) \geq 15$$

(p = jumlah perlakuan ; n = jumlah pengulangan)

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } n \geq 4$$

Dari perhitungan didapatkan $n \geq 4$, jadi dilakukan minimal 4 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok dan setiap kelompok perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan, sehingga besar sampel keseluruhan yaitu 30 ekor tikus putih (*Rattus Norvegicus*) betina. Tikus akan dikelompokkan secara acak ke dalam 6 kelompok perlakuan dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok Kontrol Negatif (-) : tikus wistar yang diberi diet normal 25 g/hari.
2. Kelompok Kontrol Positif (+) 1 : tikus yang diberi diet tinggi lemak 25 g/hari.
3. Kelompok Kontrol Positif (+) 2 : tikus yang diberi diet normal + MSG 0,7 mg/gram BB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.
4. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG (dosis msg 0,05 mg/gram BB) yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.
5. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG (dosis msg 0,20 mg/gram BB) yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.
6. Kelompok Perlakuan 3 (P3) : tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG (dosis msg 0,35 mg/gram BB) yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.

Pilihan dosis mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni dkk (2014) yang memberikan MSG pada dosis 0,7 mg/gBB berpengaruh pada penurunan ketebalan endometrium. Peneliti melakukan penurunan dosis pada kelompok percobaan untuk mendekati dosis konsumsi pada manusia. Konsumsi MSG pada manusia berdasarkan penelitian Andarwulan *et al.* (2011) di Bogor (847,04/mg/cap/hari) lebih tinggi dibandingkan di Jakarta (615,87 mg/cap/hari), maka rata rata konsumsi MSG dapat diperkirakan $(847,04 + 615,87) / 2 = 731,455/\text{mg/cap/hari}$. Jika dikonversikan ke dosis tikus (200 g) dengan nilai konversi manusia ke tikus adalah 0,018 (Laurence dan Bachrach, 1964 dalam Anggara, 2009) maka $731,455 \times 0,018 = 13,17 \text{ mg}/200 \text{ gBB} = 0,06 \text{ mg/gBB}$.

Maka untuk mendekati dosis konversi dari manusia ke tikus, peneliti menggunakan penurunan dosis pertama menjadi 0,05 mg/gBB dan pemberian

dosis kedua dan ketiga menggunakan interval 1,5 yaitu 0,2 mg/gBB dan 0,35 mg/gBB.

Pemberian pakan diet normal dan diet tinggi lemak sebesar 15% dari berat badan hewan coba karena pakan yang diberikan berupa pakan kering (Handayani, 2012).

4.2.1 Kriteria Inklusi

1. Jenis kelamin : betina
2. Umur tikus : 6-8 minggu
3. Berat badan tikus: 140-200 gram
4. Sehat (Pergerakan aktif, mata jernih, bulu tebal berwarna putih)

4.2.2 Kriteria Eksklusi

Tikus yang kondisinya menurun atau mati saat penelitian berlangsung, tikus yang cacat, tikus yang tidak mau makan, mati pada saat proses penelitian berlangsung, dan tikus yang tidak mencapai fase proestrus pada hari ke-61 perlakuan.

4.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 56 sampai 61 hari di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Perlakuan pada tikus dilakukan minimal 56 hari didasarkan penelitian Heriansyah (2013) pada tikus jenis *Rattus norvegicus* jantan yang diberikan diet tinggi lemak selama 56 hari secara signifikan menunjukkan peningkatan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL tikus. Konsumsi tikus pakan basah yaitu 15% dari BB tikus. Jangka waktu penelitian dari 56 sampai 61 hari ditentukan

berdasarkan rata-rata siklus estrus normal pada tikus yaitu 4-5 hari (Byers *et al.*, 2012).

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ketebalan endometrium pada tikus putih (*Ratus novergicus*).

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi pemberian MSG berbagai dosis dan diet tinggi lemak. Dosis yang diberikan 0,05 mg/gram BB, 0,20 mg/gram BB, 0,35 mg/gram BB dan diet tinggi lemak 25 mg/gram BB.

4.4.3 Variabel Kendali

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar objek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah:

1. Jenis tikus
2. Umur tikus
3. Jenis kelamin tikus
4. Berat badan tikus
5. Pemberian diet normal dan diet tinggi lemak
6. Kondisi lingkungan kandang

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Alat Untuk Pemeliharaan Hewan Coba

1. Kandang tikus yang berupa kotak plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm sebanyak 30 buah diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang ditempati 1 ekor tikus.
2. Tempat minum

4.5.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, wadah minum, pengaduk, sonde lambung, dan nampan.

4.5.1.3 Alat Untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

- a. Neraca Ohaus.

4.5.1.4 Alat Pemeriksaan Histologi

Cover glass, *object glass*, pinset, *oven/hotplate*, dan *automatic tissue texture prosesor* mikroskop.

4.5.1.5 Alat Bedah hewan coba

Toples, gunting bedah, styrofoam, pinset, pisau bedah, dan kapas.

4.5.2 Bahan

4.5.2.1 Bahan Makanan Tikus

- a. Pakan normal yang diberikan memiliki komposisi (untuk 1 kg pakan): tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, *soybean oil* 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, *carboxy methyl cellulose* (CMC) 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml, dan pewarna pink 30 tetes (Reeves, 1997; Handayani, 2012).

- b. MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% yang diperoleh dari *TCI Biowalt Company*. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,20 dan 0,35 mg/gBB tikus masing-masing dilarutkan dalam 1 ml akuades (Megawati *et al*, 2004).
- c. Diet Tinggi Lemak memiliki komposisi (untuk 2,5 kg pakan): tepung jagung 550 gram, gula pasir 457,5 gram, konvet 275 gram, margarin 275 gram, *soybean oil* 130 gram, gelatin 130 gram, kasein 335 gram, CMC 132,5 gram, vitamin dan mineral 25 butir, air 375 gram, pewarna hijau 20 tetes, dan asam kolat 5 gram (Handayani, 2012).
- d. Minuman hewan coba adalah air dari keran

4.5.2.2 Bahan Untuk Pembedahan Hewan Coba

- a. Ketamin 0,2 ml

4.5.2.3 Bahan Pengamatan Histologi

Xylol, *alcohol absolute*, alkohol 90%, alkohol 80%, air, *hematoxylin*, HCL 0,6%, lithium karbonat 0,5%, entelan dan eosin.

4.6 Definisi Istilah/Operasional

1. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 tikus betina jenis *Rattus novergicus* galur wistar, berumur 6-8 minggu dengan berat badan 140-200 gram, memiliki bulu rata berwarna putih, sehat, mata jernih, bergerak aktif, dan tingkah laku normal. Hewan coba dibeli dari Lab Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang.

2. Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak adalah pakan dengan kandungan lemak tinggi yaitu 3,5 gram lemak yang diberikan setiap hari (Wahono *et al*, 2006), dengan komposisi

tepung jagung 550 gram, gula pasir 457,5 gram, korvet 275 gram, margarin 275 gram, *soybean oil* 130 gram, gelatin 130 gram, kasein 335 gram, CMC 132,5 gram, vitamin dan mineral 25 butir, air 375 gram, pewarna hijau 20 tetes, dan asam kolat 5 gram (Reeves, 1997; Handayani, 2012). Diet tinggi lemak yang diberikan 25 g/hari selama 8 minggu.

3. MSG

MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% yang diperoleh dari *TCI Biowalt Company*. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,06; 0,20 dan 0,35 mg/gBB tikus (Megawati *et al*, 2004).

4. Diet Normal

Diet normal adalah pakan normal tikus yang terdiri dari tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, *soybean oil* 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, CMC 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml, dan pewarna pink 30 tetes (Reeves, 1997; Handayani, 2012). Diet normal yang diberikan 25 g/hari selama 8 minggu.

5. Ketebalan Endometrium

Endometrium yang diukur ketebalannya pada saat fase proestrus dengan menghitung rerata ketebalan endometrium yang dipotong transversal diukur pada 12 titik dengan pewarnaan HE dihitung dengan menggunakan dot slide *microscopes Olympus XC 10* dan satuan ketebalan endometrium adalah μm dengan skala ukur rasio.

4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.7.1 Pembuatan Diet Normal

Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung jagung	615 gram
Gula pasir	85 gram
Soybean oil	45 gram
Gelatin	65 gram
Kasein	90 gram
CMC	51 gram
Vitamin dan mineral	5 butir
Air	750 ml

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari

1.7.2 Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Tabel 4.2 Komposisi Diet Tinggi Lemak (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung jagung	550 gram
Gula pasir	457,5 gram
Korvet	275 gram
Margarin	275 gram
Soybean oil	130 gram
Gelatin	130 gram
Kasein	335 gram
CMC	132,5 gram
Vitamin dan mineral	25 butir
Air	375 gram
Pewarna hijau	20 tetes
Asam kolat	5 gram

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari.

1.7.3 Pemaparan MSG pada Tikus

MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% dicampurkan ke dalam akuades 1 ml dengan dosis yang sesuai dengan kelompok perlakuan. MSG diberikan dengan menggunakan sonde satu kali per hari.

1.7.4 Perlakuan terhadap Tikus

1. Hewan coba tikus betina sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 30 ekor tikus, dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.
2. Tikus diletakkan dalam kandang terpisah (1 ekor per kandang).
3. Sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimatisasi dengan kondisi laboratorium selama 7 hari, dengan tujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan.
4. Selama aklimatisasi, tikus diberi diet standar (diet normal) dan minuman (air).
5. Sebelum pemberian diet tinggi lemak, semua tikus ditimbang berat badannya.
6. Tikus kelompok kontrol negatif diberi pakan diet normal 25mg/hari.
7. Tikus kelompok kontrol positif 1 diberi pakan diet tinggi lemak 25 mg/hari.
8. Tikus kelompok kontrol positif 2 diberi diet normal + MSG 0,7 mg/gBB tikus dilarutkan dalam akuades 1 ml.
9. Tikus kelompok perlakuan 1 (P1) diberi pakan diet tinggi lemak + MSG 0,05mg/gBB tikus dilarutkan dalam akuades 1 ml.
10. Tikus kelompok perlakuan 2 (P2) diberi pakan diet tinggi lemak + MSG 0,20mg/gBB tikus dilarutkan dalam akuades 1 ml.
11. Tikus kelompok perlakuan 3 (P3) diberi pakan diet tinggi lemak + MSG 0,35mg/gBB tikus dilarutkan dalam akuades 1 ml.

1.7.5 Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi

1. Proses Pemotongan Jaringan

Sebelum dibedah, tikus dianastesi terlebih dahulu dengan cara diinjeksi menggunakan kentanin 0,2 ml. Tikus dibiarkan lemas, kemudian dibedah dan diambil organ endometriurnya, dibersihkan dengan *Phospat Buffer Saline* (PBS). Jaringan atau spesimen harus sudah terfiksasi dengan formalin 10% atau dengan bafer formalin 10% minimal selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya. Jaringan (endometrium) dipilih yang terbaik sesuai dengan lokasi yang akan diteliti. Jaringan dipotong \pm ketebalan 2-3 milimeter, lalu dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti. Jaringan kemudian diproses dengan alat *Automatic Tissue Tex Prosesor* atau dengan cara manual selama 90 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

2. Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*, kemudian diblok dengan paraffin sesuai kode jaringan. Jaringan dipotong dengan alat *microtome* dengan ketebalan 3-5 mikron (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

3. Proses Deparafinisasi

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan di letakkan dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80 derajat celcius, kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan *xyol* masing-masing 20 menit. Setelah itu di masukan ke dalam 4 tabung alkohol, masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

4. Proses Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Pada proses pewarnaan dengan HE, potongan jaringan dimasukkan ke dalam cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit, alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celupan, ammonia lithium karbonat sebanyak 3-5 celupan, dan ke dalam eosin selama 10-15 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

5. Proses Dehidrasi dengan Alkohol Bertingkat

Pada tahap dehidrasi, jaringan dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, dan ke dalam alkohol absolut selama 3 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

6. Proses Penjernihan (*Clearing*)

Jaringan dimasukkan ke dalam larutan *xylol* sebanyak dua kali masing-masing selama 60 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

7. *Mounting* dengan Entelan dan *Deckglass*

Slide atau *object glass* ditutup dengan *cover glass* dan dibiarkan kering pada suhu ruangan. Setelah kering slide siap untuk diamati dengan mikroskop (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017).

4.7.6 Pengamatan Histologi Ketebalan Endometrium dengan Kamera *Dot Slide Olympus XC 10* Perbesaran 400x

Sebelum pengukuran ketebalan endometrium terlebih dahulu preparat histologi endometrium dikonsultasikan kepada ahli Patologi Anatomi (PA) untuk pembacaan hasil preparat batas pengukuran ketebalan endometrium dari lumen epitel sampai lapisan basalis endometrium. Sediaan jaringan endometrium dipotong transversal/melintang sehingga berbentuk melingkar dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) untuk mengukur ketebalan endometrium. Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara

mikroskopis dengan menggunakan dot slide *microscopes Olympus XC 10* terhadap 48 preparat histologis endometrium dengan pembesaran 400x dan teknik pengukuran dibagi menjadi 4 kuadran lalu diukur dengan 12 titik, dihitung secara *live-auto exported to microsoft excel* kemudian hasil penghitungan dirata-rata dan dijumlahkan sehingga menghasilkan 1 data untuk satu kelompok perlakuan (Wahyuni, 2014).

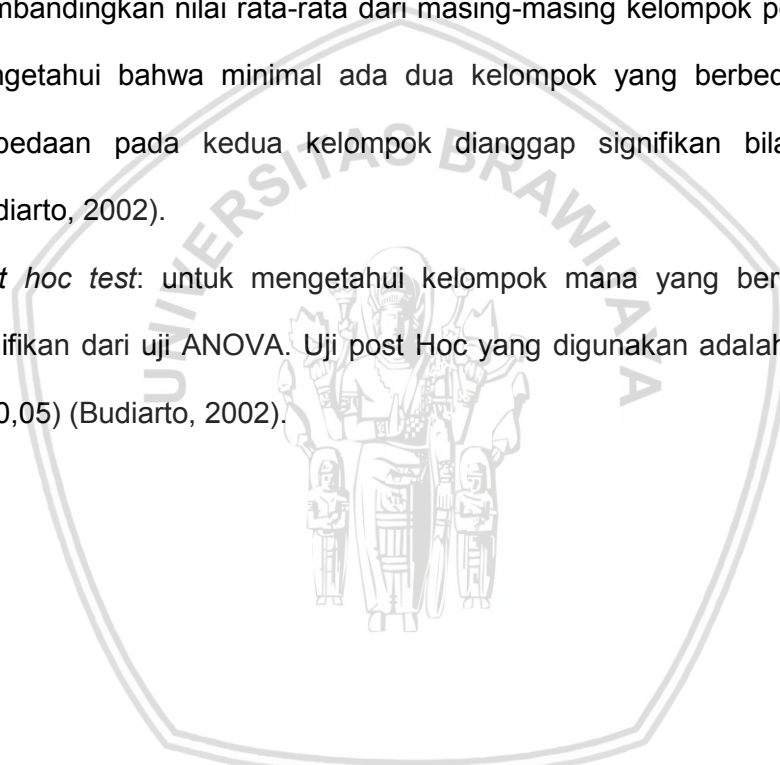
1.8 Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 19.0 for Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($P < 0,05$). Langkah-langkah uji data adalah sebagai berikut:

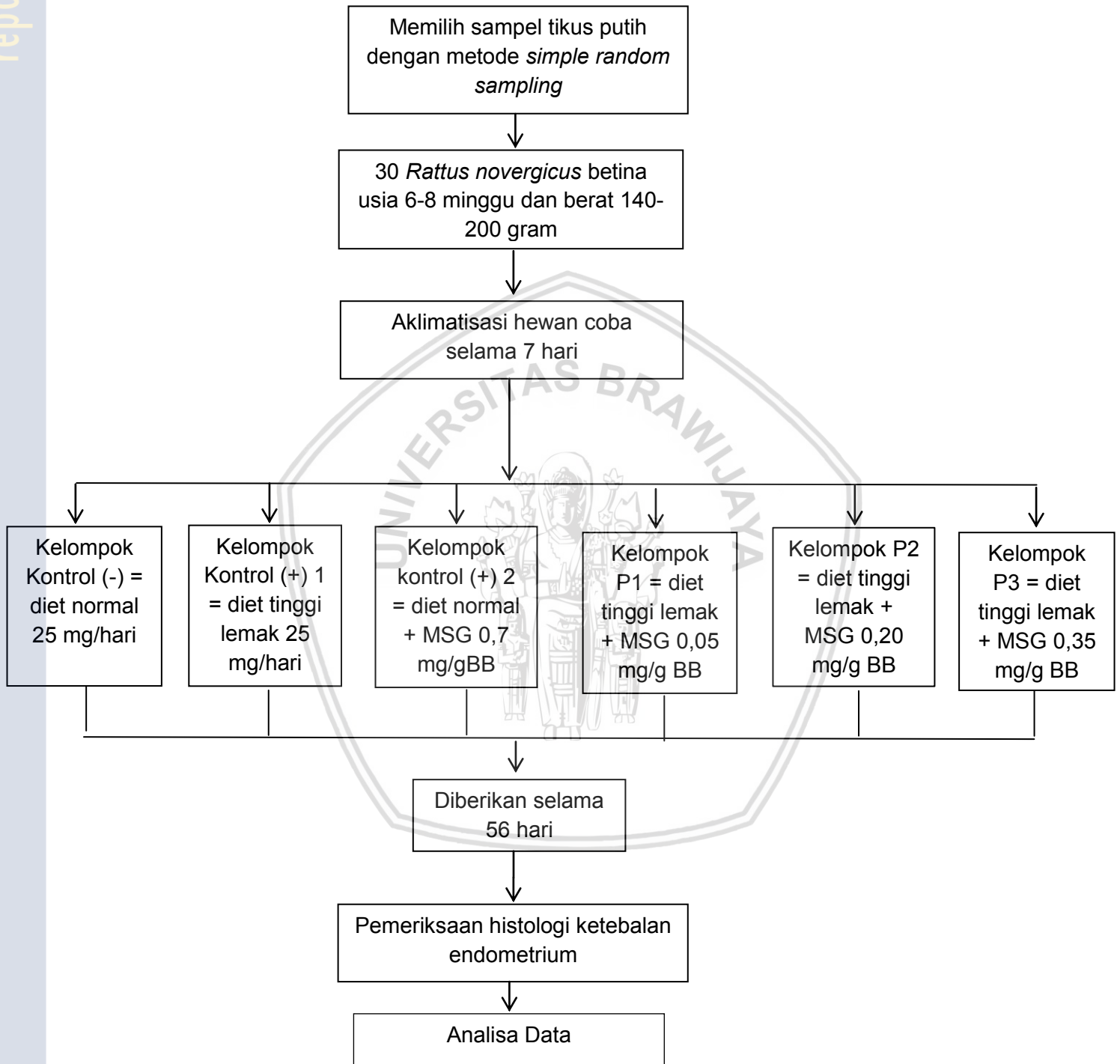
1. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran/distribusi yang normal atau tidak. Normal atau tidaknya distribusi data akan menentukan pemilihan penyajian data dan uji hipotesis. Untuk penyajian data yang terdistribusi normal maka digunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan *median* dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Apabila distribusi/sebaran data normal, maka uji hipotesis menggunakan uji parametrik, sedangkan apabila sebaran data yang tidak normal, maka uji hipotesis menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 ($N \leq 50$). Data dikatakan memiliki persebaran normal jika $p > 0,05$ (Budiarto, 2002).
2. Uji homogenitas varian (menggunakan uji *Levene*): bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari

setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA atau asumsi untuk menggunakan ANOVA telah terpenuhi. Pada penelitian ini menggunakan uji *Levene*. Data dikatakan memiliki varian yang homogen apabila signifikansinya $p > 0,05$ (Budiarto, 2002).

3. Uji *One Way ANOVA* (analisa varian satu arah): bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan bila $p < 0,05$ (Budiarto, 2002).
4. *Post hoc test*: untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji ANOVA. Uji post Hoc yang digunakan adalah uji LSD 5% ($P < 0,05$) (Budiarto, 2002).



4.9 Skema Alur Penelitian



4.10 Etik Penelitian

Masalah etik yang mungkin dihadapi dalam penelitian ini dapat muncul saat pemberian MSG dengan sonde lambung dan saat pembedahan hewan coba, sehingga dapat memunculkan rasa sakit pada hewan coba. Untuk itu, maka dilakukan prinsip 3 R dalam protokol penelitian terhadap hewan coba, yaitu:

1. *Replacement*: dalam penelitian ini, digunakan hewan coba sebagai subjek untuk memperoleh bukti efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap jumlah ketebalan endometrium.
2. *Reduction*: penelitian ini menggunakan jumlah sampel hewan coba minimal berdasarkan rumus Notoadmojo 2010 yaitu $p(n-1) \geq 15$ dengan p : jumlah perlakuan, n : jumlah ulangan. Jumlah perlakuan sebanyak 6, jadi dilakukan minimal 4 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok. Untuk setiap perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan, sehingga total sampel yang dibutuhkan adalah 5 ekor tikus x 6 kelompok = 30 ekor tikus.
3. *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi. Prinsip *refinement* berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi:
 - a. *Freedom from hunger and thirst*

Memastikan hewan coba tidak kelaparan dan kehausan dengan memberikan makan dan minum secara teratur setiap hari dengan memperhatikan komposisi sesuai dengan kelompok perlakuan serta memantau konsumsi makan setiap hari.

b. Freedom from pain

Selama perlakuan hewan coba diberikan MSG melalui sonde dengan cara memegang hewan coba pada bagian tengkuk secara hati-hati namun mantap menggunakan ibu jari dan telunjuk sehingga kepala tikus tidak bergerak-gerak dan sonde dapat dimasukan. Pada saat pembedahan untuk mengurangi rasa sakit pada hewan dilakukan anastesi terlebih dahulu sebelum pembedahan.

c. Freedom from injury and disease

Hewan coba tidak diberikan perlakuan yang menimbulkan nyeri dan penyakit secara langsung. Hewan coba akan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan jika diperlukan dengan catatan pengobatan penyakit tidak mengganggu penelitian.

d. Freedom from distress and feeling discomfort

Melakukan adaptasi hewan coba pada 7 hari pertama. Tikus diadaptasi di laboratorium Faal FKUB selama 7 hari dan kemudian dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok. Selama adaptasi tikus diberi pakan standar yang terdiri dari PARS. Selanjutnya, selama perlakuan dilakukan perawatan kandang pada hewan coba, pembersihan kandang, dan penggantian sekam dilakukan setiap 2 kali dalam 1 minggu dengan memperhatikan cahaya, suhu, dan kelembaban.

e. Freedom to express their normal behavior

Memberikan ruang dan fasilitas kepada hewan coba yang sesuai dengan kehidupan biologi dan tingkah laku tikus, maka dalam penelitian ini menempatkan hewan secara individu dalam setiap kandang (KNEPK, 2011).

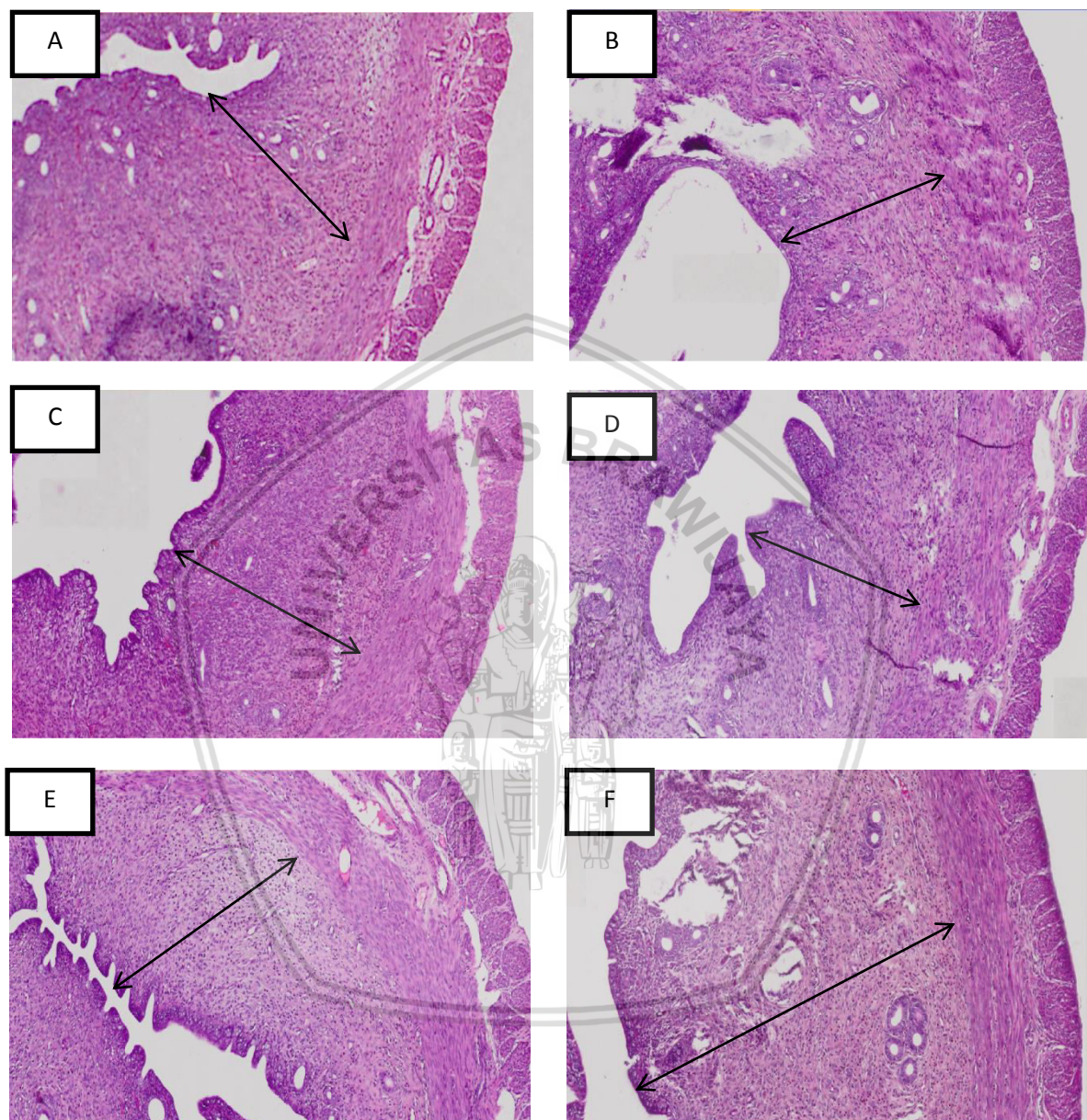
BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Subjek

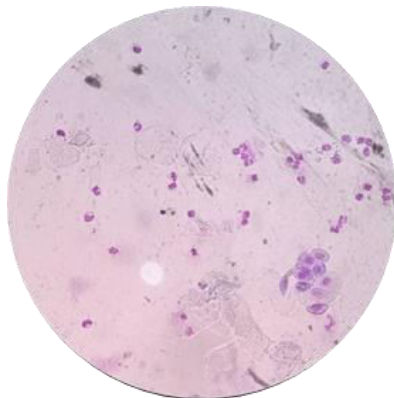
Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratoric* dengan *post test only control group design* menggunakan hewan coba tikus betina *Rattus novergicus* galur wistar sebanyak 30 ekor tikus yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai sampel penelitian.

Penelitian ini menguji tentang pengaruh kombinasi diet tinggi lemak dan MSG (*Monosodium Glutamate*) berbagai dosis. Hewan coba dibagi kedalam 6 kelompok perlakuan yang berbeda-beda yaitu: 1) kelompok kontrol (-) tikus yang diberi diet normal, 2) kelompok kontrol (+1) tikus yang diberi diet tinggi lemak tanpa diberikan MSG, 3) kelompok kontrol (+2) tikus yang diberi diet normal dan MSG 0,7mg/gram BB, 4) kelompok P1 tikus diberikan diet tinggi lemak dan MSG 0,05mg/gram BB, 5) kelompok P2 tikus diberikan diet tinggi lemak dan MSG 0,20mg/gram BB, 6) kelompok P3 tikus diberikan diet tinggi lemak dan MSG 0,35mg/gram BB. Pemberian perlakuan dimulai pada tikus dengan siklus metestrus selama 56 hari.



Gambar 5.1 Mikroskopis Endometrium Tikus dengan Pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dan Perbesaran 400X

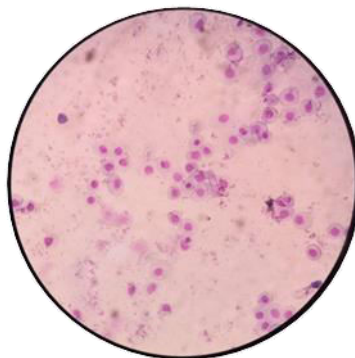
Kontrol negatif (A); Kontrol (+1) Diet Tinggi Lemak (B); Kontrol (+2) MSG 0,7mg/gram BB (C); P1 kombinasi Diet Tinggi Lemak+0,05mg/gram BB (D); P2 kombinasi Diet Tinggi Lemak+MSG 0,2mg/gram BB (E); P3 kombinasi Diet Tinggi Lemak+MSG 0,35mg/gram BB (F). Ketebalan endometrium diukur dari batas akhir myometrium (yang tidak ada lapisan otot polos) sampai lapisan epitelium (ditunjukkan tanda ↑)



Gambar 5.2 Siklus Metestrus

Keterangan gambar: Siklus metestrus ditandai dengan adanya sel epitel berinti, sel epitel tidak berinti dan sel leukosit.

Setelah perlakuan selesai, pada hari ke 57 dilakukan swab vagina tikus untuk memastikan bahwa tikus pada fase proestrus, jika hasilnya menunjukkan pada fase proestrus maka dilakukan pembedahan diambil organ uterus. Namun, jika hasilnya tidak menunjukkan pada fase proestrus maka dilakukan swab vagina lagi pada hari berikutnya, jika sudah memasuki fase proestrus maka dilakukan pembedahan. Namun, jika hasil tetap menunjukkan bukan fase proestrus penelitian dilanjutkan hingga hari ke 61.

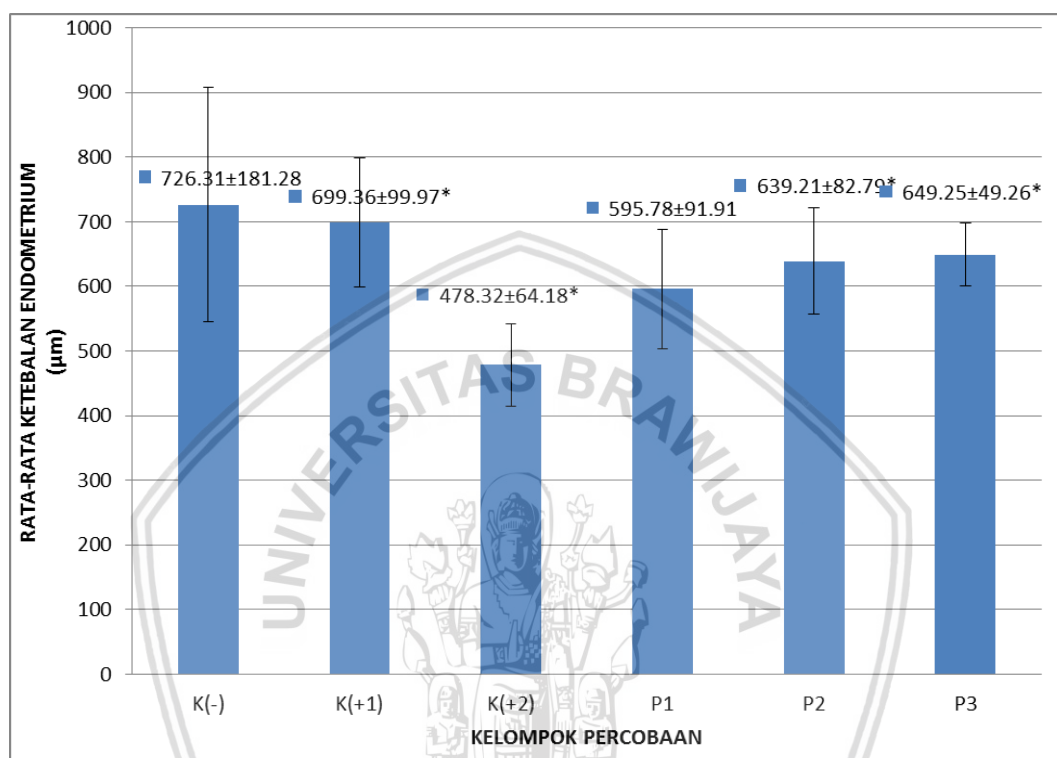


Gambar 5.3 Siklus Proestrus

Keterangan gambar: Siklus proestrus ditandai dengan adanya sel epitel normal dengan banyak lapisan, stratum korneum kornifikasi aktif, tanpa leukosit, tanpa sel epitel bertanduk, didominasi oleh sel epitel berinti.

Penimbangan berat basah uterus dari setiap kelompok dengan menggunakan timbangan digital (OHAUS) dengan kepekaan 0.0001 gram. Pemeriksaan ketebalan endometrium pada sediaan histologi endometrium dengan pengecatan Hematoksilin-Eosin (HE) menggunakan pengamatan dot slide *microscope Olympus XC 10* terhadap 48 preparat histologis endometrium dengan pembesaran 400X dan teknik pengukuran hanya pada 1 irisan dibagi menjadi 4 kuadran lalu diukur dengan 12 titik. Data yang terkumpul diolah dengan program SPSS 19.

5.2. Pengaruh Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG Berbagai Dosis Terhadap Ketebalan Endometrium (μm) Tikus Putih (*Rattus novergicus*)



Gambar 5.4 Perbandingan rerata ketebalan endometrium

* $p < 0,05$ adalah signifikan

Diagram 5.4 Grafik menunjukkan rata-rata ketebalan endometrium \pm standard deviasi yang menunjukkan bahwa terdapat penurunan rata-rata ketebalan endometrium pada kelompok K(+1) dan K(+2) maupun kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K(-)) dengan satuan μm .

Berdasarkan gambar 5.3 menunjukkan bahwa, kelompok kontrol (+2) yaitu kelompok tikus yang diberi diet normal dan MSG 0,7mg/gram BB memiliki rata-rata ketebalan endometrium paling rendah yaitu sebesar 478.32 ± 64.18 dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (hanya diberi diet normal saja) yaitu sebesar 726.31 ± 181.28 dan kelompok kontrol (+1) yang diberi diet tinggi lemak saja sebesar 699.36 ± 99.97 , pada kelompok perlakuan (kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis) diperoleh rata-rata lebih tinggi (P1:

595.78±91.91; P2: 639.21±82.79; P3: 649.25±49.26) dibandingkan dengan kelompok kontrol (+2).

Tabel 5.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Ragam Ketebalan Endometrium

Pengujian Asumsi	Kelompok	p-value	Keterangan
Normalitas	K(-)	0,432	Normal
	K(+1)	0,534	Normal
	K(+2)	0,386	Normal
	P1	0,478	Normal
	P2	0,724	Normal
	P3	0,403	Normal
Homogenitas		0,323	Homogen

Pengujian ketebalan endometrium dilakukan dengan menggunakan ANOVA. Terdapat dua asumsi yang melandasi ANOVA, yaitu asumsi normalitas dan homogenitas ragam. Asumsi normalitas terpenuhi jika signifikansi hasil pengujian dengan *Saphiro – Wilk Test* lebih besar dari $\alpha = 0,05$. Asumsi homogenitas ragam terpenuhi jika nilai signifikansi hasil pengujian dengan uji *Levene test* lebih besar dari $\alpha = 0,05$. Berdasarkan uji normalitas dan uji homogenitas variable ketebalan endometrium seperti pada Tabel 5.1 maka diperoleh hasil sebaran data normal dan dinilai homogen.

Pada penelitian ini, untuk menguji apakah kombinasi diet tinggi lemak dan MSG dapat mempengaruhi ketebalan endometrium signifikan atau tidak, maka dilakukan pengujian dengan *one way ANOVA* ($p=0,015$) sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap ketebalan endometrium jika dibandingkan dengan K(+). Pada pengujian *one way ANOVA* jika dibandingkan dengan kontrol negatif maka secara keseluruhan terdapat penurunan yang signifikan pada rerata ketebalan endometrium ($p=0,045$). Hal ini menunjukkan

bahwa pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan ketebalan endometrium.

Selanjutnya dilakukan uji perbandingan berganda dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT)/ *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata ketebalan endometrium masing-masing kelompok perlakuan. Berikut hasil pengujian LSD 5%:

Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Rerata Ketebalan Endometrium

p-value	K(-)	K(+1)	K(+2)	P1	P2	P3
K(-)		0,718	0,003*	0,092	0,251	0,308
K(+1)			0,008*	0,175	0,423	0,504
K(+2)				0,127	0,042*	0,032*
P1					0,562	0,476
P2						0,893
P3						

*p value<0,05 signifikan

Kontrol negatif (K(-)) adalah tikus yang diberi diet normal; K (+1) adalah tikus yang diberi diet tinggi lemak; K (+2) adalah tikus yang diberi MSG 0,7mg/gram BB; P1 adalah tikus yang diberi kombinasi Diet Tinggi Lemak+0,05mg/gram BB; P2 adalah tikus yang diberi kombinasi Diet Tinggi Lemak+MSG 0,2mg/gram BB; P3 adalah tikus yang diberi kombinasi Diet Tinggi Lemak+MSG 0,35mg/gram BB

Hasil dengan menggunakan LSD 5%, pada perbandingan antara kelompok kontrol (+1) terhadap kelompok negatif didapatkan nilai $p > 0,05$ terdapat penurunan rerata ketebalan endometrium namun penurunan terjadi tidak signifikan. Perbandingan kelompok kontrol (+2) terhadap kelompok negatif didapatkan nilai $p < 0,05$ terdapat perbedaan rerata ketebalan endometrium yang signifikan. Perbandingan rerata ketebalan endometrium kelompok kontrol (+2) terhadap kontrol (+1) didapatkan nilai $p < 0,05$. Perbandingan rerata ketebalan endometrium kelompok perlakuan terhadap kelompok negatif tidak signifikan dengan nilai $p > 0,05$. Perbandingan rerata ketebalan endometrium antara kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol (+1) didapatkan nilai $p > 0,05$

sehingga perubahan tidak signifikan. Perbandingan kelompok perlakuan P1 terhadap kelompok kontrol (+2) didapatkan nilai $p > 0,05$ sehingga perubahan ketebalan rerata endometrium tidak signifikan. Kelompok perlakuan P2 dan P3 terhadap kelompok kontrol (+2) didapatkan nilai yang signifikan dengan $p < 0,05$. Perbandingan rerata ketebalan endometrium antar kelompok perlakuan didapatkan nilai yang tidak signifikan dengan $p > 0,05$.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG terhadap Ketebalan Endometrium

6.1.1. Diet Tinggi Lemak terhadap Ketebalan Endometrium

Hasil dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pemaparan diet tinggi lemak dapat menurunkan ketebalan endometrium akan tetapi penurunan tersebut tidak signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Shang (2017), dalam penelitiannya pada tikus yang diberi diet tinggi lemak menyebabkan perubahan pada ketebalan lapisan endometriunya yaitu kelompok yang diberi diet tinggi lemak memiliki rerata ketebalan yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol, tetapi perubahan tersebut tidak bermakna. Penelitian ini juga menemukan korpus uterus yang kecil, kelenjar epitel atrofi, menunjukkan sel-sel kolumnar sederhana yang sedikit dan sitoplasma yang rendah dibandingkan nukleusnya.

Reisi, *et al.* (2014), dalam penelitiannya menyatakan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan hiperkolesterol yang dapat meningkatkan stress oksidatif dan akibatnya terjadi apoptosis neuron nukleus arkuata. Apoptosis neuron nukleus arkuata ini dapat mempengaruhi hipotalamus dalam memproduksi GnRH, sehingga produksinya berkurang yang selanjutnya akan menghambat hipofisis anterior dalam memproduksi FSH dan LH. Hormon LH berperan mempengaruhi korpus luteum mengeluarkan progesteron dan estrogen yang berperan menghasilkan estrogen dan progesteron dan FSH bekerja pada sel granulosa untuk meningkatkan konversi androgen teka menjadi estrogen.

Produksi estrogen untuk proliferasi endometrium dan progesteron untuk mempersiapkan implantasi embrio pada endometrium (Sheerwood, 2011). Oleh sebab itu, jika kadar FSH dan LH menurun dapat menyebabkan penurunan juga pada hormon estrogen dan progesteron yang akan mengganggu perkembangan endometrium sehingga ketebalannya berkurang.

6.1.2. MSG terhadap Ketebalan Endometrium

Hasil dalam penelitian ini menunjukkan bahwa pemaparan MSG 0,7mg/gram BB dapat menurunkan ketebalan endometrium secara signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Wahyuni *et al.* (2014) bahwa pemberian MSG 0,7mg/gram BB menurunkan ketebalan endometrium secara bermakna. Selain itu, Wahyuni *et al.* (2014) juga menemukan penurunan *vascular endothelial growth factors* (VEGF) dan kadar reseptor α – estrogen. VEGF merupakan faktor pertumbuhan potensial yang dibutuhkan dan memegang peran penting dalam proses proliferasi endometrium. Pada fase proliferasi, pembuluh darah akan mengalami proses angiogenik melalui formasi arteriol spiral sehingga pembuluh arteriol akan terbentuk dan lapisan endometrium menebal (Chen *et al.*, 2015; Kanzaki, 2016).

Konsumsi MSG yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan hormonal karena ion glutamat dalam sirkulasi portal akan mempengaruhi hipotalamus dalam memproduksi GnRH sehingga akan mengganggu hipofisis anterior memproduksi FSH dan LH dan juga menyebabkan gangguan aktivitas folikel primordial yang akan menjadi folikel primer ikut terhambat untuk menstimulasi folikel di ovarium memproduksi estrogen dan proliferasi endometrium (Rees *et al.*, 2005).

6.1.3. Kombinasi Diet Tinggi Lemak dan MSG terhadap Ketebalan Endometrium

Penelitian pada pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis terhadap kelompok kontrol (+1) yaitu yang diberi diet tinggi lemak saja menunjukkan hasil adanya penurunan ketebalan endometrium yang tidak signifikan berdasarkan uji LSD 5% ($P_1 = 0,175$; $P_2 = 0,423$; $P_3 = 0,504$). Pemberian diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis terhadap kelompok kontrol (+2) yaitu yang diberi MSG dosis toksik 0,7mg/gram BB menunjukkan hasil adanya penurunan ketebalan endometrium yang signifikan pada kelompok P_2 ($p = 0,042$) dan P_3 ($p = 0,032$) tetapi tidak pada kelompok P_1 ($p = 0,127$).

Ketebalan endometrium pada setiap kelompok perlakuan tetap mengalami penurunan meskipun dosis MSG yang diberikan rendah karena ada pengaruh lain yaitu pemberian diet tinggi lemak. Penelitian yang dilakukan oleh Megawati, *et al.* (2005) menunjukkan pemberian dosis MSG yang rendah tidak berpengaruh nyata pada persentase jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan korpus luteum meskipun persentase jumlahnya di bawah dari kelompok kontrol. Folikel-folikel tersebut dipengaruhi oleh GnRH, FSH, dan LH dalam perkembangannya. Folikel primer terbentuk karena adanya respon terhadap meningkatnya kadar hormon GnRH, FSH, dan LH. Folikel sekunder terbentuk ketika jaringan ikat yang dinamakan teka folikuli berkembang disekitar folikel dan antrum juga ikut berkembang. Sel-sel teka dan granulosa memproduksi hormon steroid (estrogen dan sedikit progesteron) yang mana menyebabkan endometrium berproliferasi dan menebal pada fase proliferaatif. Korpus luteum juga berperan dalam mensekresi progesteron untuk menstimulasi endometrium menjadi lebih vaskular dan mengeluarkan mukus sehingga

endometrium semakin menebal (Constanti *et al.*, 1998). Oleh sebab itu, menurunnya jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan korpus luteum dapat menurunkan ketebalan endometrium juga.

Penelitian Ibegbulem, *et al.* (2016) menunjukkan bahwa pemberian MSG dosis rendah pada tikus wistar tidak menurunkan kadar estradiol dan testosteron dalam darah. Oleh sebab itu, pemberian MSG dalam dosis rendah tidak memberikan efek toksik dibandingkan dengan pemberian MSG dengan dosis 0,7mg/gram BB.

Penelitian lain membuktikan pemberian MSG berbagai dosis rendah yaitu 0,012 mg/gram BB, 0,015 mg/gram BB. dan 0,018 mg/gram BB pada diameter sel epitel berinti hasil ulas vagina menunjukkan adanya perubahan antara kelompok kontrol dan perlakuan, tetapi antar perlakuan perubahan tidak bermakna (Suci, 2015).

Collison *et al.* (2009) membuktikan pada penelitiannya bahwa kombinasi diet MSG dan asam lemak trans (TFA) menyebabkan tingginya kadar leptin. Leptin dapat menghambat produksi estradiol yang distimulasi LH oleh sel granulosa dan mengganggu perkembangan folikel dominan serta maturasi sel sehingga memungkinkan proliferasi endometrium terganggu (Dag *et al.*, 2015). Berbeda dengan penelitian oleh Adnyana *et al.* (2016) membuktikan pada penelitiannya bahwa kombinasi MSG dan diet tinggi lemak berpengaruh pada peningkatan kadar total lemak tubuh tikus. Tingginya kadar total lemak pada tubuh menurunkan sensitivitas insulin yang berpengaruh juga pada penurunan kadar *sex hormone binding globulin* (SHBG). SHBG ini berfungsi mengikat estrogen dan androgen lainnya. Sehingga, jika kadar SHBG berkurang, maka estrogen yang diikat akan berkurang dan jumlah estrogen yang bebas dalam

tubuh yang akan masuk ke dalam sel semakin banyak dan dapat menyebabkan hiperplasia endometrium (Frankenberg AD *et al.*, 2017; Wallace *et al.*, 2013; McGuire, 1989).

6.2 Pengaruh Ketebalan Endometrium terhadap Sistem Reproduksi

Yu Wu, *et al.* (2014) menemukan bahwa wanita dengan tebal endometrium yang kurang dari 7mm memiliki kemungkinan untuk hamil lebih rendah dan berisiko mengalami keguguran lebih tinggi jika kehamilan terjadi .

Endometrium yang tipis juga menyebabkan kegagalan dalam proses *in vitro fertilization* (IVF) (Zhao Ma, 2017). Kegagalan embrio dalam impantasi salah satu faktor penyebabnya yaitu karena tipisnya lapisan endometrium maternal sehingga uterus tidak cukup adekuat untuk menopang embrio (Ghumman, 2015).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Pemberian diet tinggi lemak harian pada hewan coba dalam penelitian ini belum diketahui apakah jumlah dan komposisinya sesuai dengan konsumsi diet tinggi lemak harian pada manusia. Selain itu, terdapat kemungkinan perbedaan komposisi dari kombinasi diet tinggi lemak dan MSG yang diberikan pada hewan coba dengan komposisi yang dicampurkan pada makanan manusia. Penelitian ini membuktikan bahwa terdapat pengaruh dari pemberian diet tinggi lemak yang dikonsumsi bersamaan dengan MSG terhadap ketebalan endometrium, tetapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan pengaruh langsung terhadap kadar hormone FSH dan LH yang berpengaruh terhadap endometrium, kemampuan implantasi zigot pada endometrium dan pengaruh langsung terhadap manusia.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Pemberian kombinasi MSG dan diet tinggi lemak menyebabkan penurunan ketebalan endometrium pada tikus wistar *Rattus novvergicus*.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konversi pakan diet tinggi lemak yang diberikan pada hewan coba dengan konsumsi diet tinggi lemak rata-rata manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berbagai dosis yang berbeda terhadap ketebalan endometrium.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap kadar FSH dan LH yang berpengaruh terhadap ketebalan endometrium.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap kemampuan implantasi zigot pada endometrium.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyana I K, Safitri D, and Christopher W. 2016. Preventive Effect of Jasmine Flower Ethanol Extract on MSG-High Fat Diet Induced in Male Wistar Rats. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8(7): 1066-1070.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*, Adabia Press, Jakarta, hal. 1-47.
- Andarwulan N., Nuraida L., Madanijah S., Lioe H.N., Zulaikhah. 2011. Free Glutamate Content of Condiment and Seasonings and Their Intake in Bogor and Jakarta, Indonesia. *Food and Nutrition Sciences*. 2: 764-769.
- Balasubramanian, P., Lakshmikripa J., Madhan S., Ebony T.G., Sheba M.J., *et al*. 2012. High-fat diet affects reproductive functions in female diet-induced obese and dietary resistant rats. *Journal of Neuroendocrinology*. 24(5): 748-755.
- Boutry, C., Hideki M., Gheorghe A., Robert B., Daniel T., Francois B., *et al*. 2010. Monosodium glutamate raises antral distension and plasma amino acid after a standard meal in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 300:137-145.
- Budiarto, Ekp. 2002. *Metodologi Penelitian Kedokteran*, EGC, Jakarta
- Byers S.L., Wiles M.V., Dunn S.L., Taft R.A. 2012. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *Plos One*. 7 (4): 355-358.
- Chen, Xihua, Jianbing Liu, Bin He, Yunfeng Li, Shuyan Liu, Bin Wu, Shufang Wang, Shucheng Zhang, Xiangbo Xu, and Jiedong Wang. 2015. Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulation by hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF1A) starts and peaks during endometrial breakdown, not repair, in a mouse menstrual-like model. *Human Reproduction*. 30(9):2160-2170
- Claude Gompel, 2000. *Introduction to gynecologic cytopathology with histologic and clinical correlations*.
- Collison, Kate S., Zakia M., Soad M. s., Angela Inglis, Nadine J. M., Razan B., M. Al-Johi, Rana A., Marya Z., and Futwan A. A. 2009. Effect of dietary monosodium glutamate on trans fat-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Journal Lipis Re*. 50(8):1521-1537
- Codex Alimentarius Commission. 1969. *Recomemmended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene*. (online). (https://www.idfa.org/docs/defaultsource/resourcelibrary/391_cxp_001e.pdf?sfvrsn=0, diakses pada 24 Maret 2018)

- Constanti, Andrew, Andrzej Bartke, and Romesh Khardori. 1998. *Basic Endocrinology*, Harwood Academic Publishers, Amsterdam.
- Dag, Zeynep Ozcan and Berna Dillbaz. 2015. Impact of obesity on infertility women. *J Turk Ger Gynecology Association*. 16(2):111-117.
- Dehbashi. 2003. Effect of clomiphene citrate on endometrium thickness and echogenic patterns. *Int J Gynaecol Obstet*. 80(1):49-53.
- Edward, Zulkarnain. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Pada Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) Terhadap FSH dan LH. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Andalas*. 34(2): 161-166.
- Emmy Nurul Suci. 2015. *Histologi Hasil Ulas Vagina dan Waktu Siklus Estrus Mencit (Mus musculus, L.) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG)*. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Uleo, Kendari.
- El Fattah A., Beltagy B.M., Elghaweet H.A. 2016. Adverse effect of Monosodium Glutamate on The Reproductive Organs of Adult Female Albino Rats and The Possible Ameliorated Role of Carob. *Journal of Bioscience and Applied Research*. 2(3): 170-184.
- Eroschenko VP. 2010. *Atlas Histologi diFiore: dengan korelasi fungsional*, Edisi 11, EGC, Jakarta.
- Falcone. Tommaso. 2007. *Clinical Reproductive Medicine and Surgery*. Elsevier, Philadelphia.
- Fatmawati Heni, M. Faisol R., dan Wulandari Pipiet. 2012. Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare Terhadap Kadar NF-Kb pada Tikus Wistar yang diberi Diet Aterogenik. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Ferial, Eddyman W. 2012. *Gizi, Infertilitas, dan Penanggannya*, (Online), (repository.unhas.ac.id, diakses 12 Desember 2016).
- Fernandez CDB, Bellentani FF, Fernandes S. Giudice L, Ball GD, Antonio CC, Wilma DG, Juliana EP, Fernandes GSA, Perobelli JE, Favareto APA, Nascimento AF. 2011. Diet-induced obesity in rats to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 92(2): 32-40.
- Frankenberg AD, von., Marina A., Song X., Callahan HS, Kratz M., and Utzschneider KM. 2017. A high-fat, high-saturated fat diet decreases
- Ganong, W. F. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 22, EGC, Jakarta.
- Ghumman, Surveen. 2015. *Principles and Practices of Controlled Ovarian Stimulation in ART*, Springer, India.

- Handayani, D. 2012. *Prevention and Treatment of High Fat-Diet-Induced by Dietary Intake of Shitake and Oat*. Thesis. Tidak diterbitkan, Health and Behavioural Faculty, Wollogong.
- Heffner, Linda J. 2005. *At a Glance Sistem Reproduksi*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Heriansyah, T. 2013. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus novergicus* strain wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 13(3):144-150.
- Hidayati D., Tri H., M.P, dan Suhandoyo. 2014. Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium dan Ketebalan Lapisan Endometrium Uterus Tikus Putih Betina. *Jurnal Pendidikan Matematika dan Sains*. 3(4).
- Husarova, Veronika. 2013. Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implication for Human Intake. *Jmed Research*. 2013(2013).
- Ibegbulem, C. O., Paul C. C., Agwu Igwe U., and Chinwe N. Opara. 2016. Effects of Diet Containing Monosodium Glutamate On Organ Weights, Acute Blood Steroidal Sex Hormone Levels, Lipid Profile and Erythrocyte Antioxidant Enzymes Activities of Rats. *Journal of Acute Disease*. 5(1):402-407.
- Igwebuike, Udensi Madubuachi, Nwankwo, Ijeoma Ada, and Ochigu. 2010. Effects of Oral Administration of Monosodium Glutamate on Serum Testosterone Levels and Muscle Mass Development in Male Rats. *Animal Research International*. 7(2): 1212-1217.
- Janqueira, LC. 2007. *Persiapan Jaringan untuk Pemeriksaan Mikroskopik. Histology Dasae: Teks dan Atlas*, Edisi 10, EGC, Jakarta.
- John E. Blundell and Peter J. Rogers. 1990. Umami and appetite: Effects of monosodium glutamate on hunger and food intake in human subjects. *Physiology and Behavior*. 48(6): 801-804.
- Johnson, Sapna, Ramakant Saku, nad Poorneima Saxone. 2012. Nutritional Analysis of Junk Food. *Science and Environment*. 1(1): 1-24.
- J. Yang, Zhang X., Liu Z., Yuan Z., Song Y., Shao S., et al. 2016. Cholesterol Diet Disrupts the Levels of Hormones Derived from Anterior Pituitary Basophilic Cells. *Journal of Neuroendocrinology*. 28(3).
- Kadanali, Sedat. 2012. The Effect of Administering Vaginal Estrogen to Clomiphene Citrate Stimulated Cycles on Endometrial Thickness and Pregnancy Rates in Unexplained Infertility. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 13(3): 157-161.

- Kanzaki, Hideharu. 2016. *Uterine Endometrial Function*. Springer, Japan.
- Kaur, Rajneesh, Bhagya Prect, Verma R. K., and Kiran U. V. 2014. Fast food and junk food culture, nutritional status and cognitive and abnormal behaviour among teens. *International Research Journal of Social Sciences*. 3(9): 46-49.
- Kayisoglu and A. Icoz. 2014. Effect of Gender on Fast Food Consumption Habits of High School and Universities Students in Tehirdog, Turkey. *Acta Alimentaria*. 43(1): 53-60.
- Kodariah, Ria. 2013. "Effects of High-sugar and High-fat Diet on Fat Deposition and Blood Vessel Wall on Sprague Dawley Rats Liver". *Journal UI* . 1(2).
- Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan. 2011. *Buku Ajar Etik Penelitian Kesehatan*. UB Press, Malang.
- Konrad, S. P., Farah, V., Rodrigues, B., Wichi, R. B., Machado, U. F., Lopes, H. F., D'Agord Schaan, B., De Angelis, K. & Irigoyen, M. C. 2012. Monosodium Glutamate Neonatal Treatment Induces Cardiovascular Autonomic Function Changes in Rodents. *Clinics (Sao Paulo)*. 67(10), 1209-14.
- Kusumastuty, Inggita. 2014. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus dengan Diet Aterogenik. *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 1(1): 50-56.
- Laboratorium Patologi Anatomi. 2017. *Prosedur Pengerjaan Preparat Histo Patologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Leeson, C. R., Leeson, T. S., dan Paparo, A. A. 1990. *Buku Ajar Histologi*. Tambayong, J., Siswojo, S. K., Wonodirekso, S., Suryono, I. S., Tanzil, R., Soeharto, R., Roewijoko, S., Goeritnoko, I., dan Martoprawiro, M. (penerjemah), Edisi 5, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Manuaba, I.B.G., Manuaba C.I.A., Manuaba F.I.B.G. 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*, EGC, Jakarta.
- Marks D.B., Marks A.D., Smith C.M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. EGC, Jakarta.
- Mascarenhas Maya N., Seth R. F., Ties B., Sheryl V., and Grethchen A. S. 2012. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *Plos medicine*. 9(12): 1-11.
- McGuire, William L. 1989. *Endometrial Cancer*. Kluwer Academic, London.
- McNamara JP. 2006. *Principles of Companion Animal Nutrition*. Pearson Education, Upper Saddle River New Jersey.

- Megawati D., Sutarno., listyawati S. 2005. Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (*Rattus novergicus* L.) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) secara Oral. *Biosmart*. 7 (1):47-52.
- Mondal M., Kaushik Sarkar, Partha Pratim N. and Goutam Paul. 2016. Monosodium Glutamate Depresses The Function of Female Preproductive System in Rat by Promoting Oxidative Stress Induced Changes in The Structure of Uterus. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 7(4): 799-804.
- Moraes, Juliana C., Andressa C., Joseane M., Dennis E. C., Erika A. R., Talita R., *et al.* 2009. High-Fat Diet Induces Apoptosis of Hypothalamic Neurons. *Plosone*. 4(4):1-11.
- Murdiana, Elsa. 2012. Analisis Penggunaan Monosodium Glutamat (MSG) pada Ibu Rumah Tangga di Perkotaan dan Pedesaan Bogor. *Skripsi*. Tidak diterbitkan, Fakultas Ekologi Manusia, Institute Pertanian Bogor.
- Niza, Renti S., Enikarmila A., Wlwit A. FW, dan Ismawati. 2015. Hubungan Lama Pemberian Diet Aterogenik terhadap Kadar Trigliserida tikus wistar jantan. *Jom FK*. 2(2): 1-12.
- Obochi, G. O., S. P. Malu, Obi-Abang, Y. Alozie, and M. A. Iyam. 2009. Effect of Garlic Extracts on Monosodium Glutamate (MSG) Induced Fibroid in Wistar Rats. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8(7):970-976.
- Partodiharjo S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiar, Jakarta.
- Parker, S. W., F. Miro, L. J. Aspinall, J. Coley, P. W. Perry, J. E. Ellis. 2004. Relationship between Follicle-Stimulating Hormone Levels at the Beginning of Human Menstrual Cycle, Length of the Follicular Phase and Excreted Estrogens. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 89(7): 3270-3275.
- Paulsen, F. and J. Waschke. 2014. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia*, Edisi 23, EGC, Jakarta.
- Pushpendra, Agarwal. 2015. Hyper-Lipidemia and Male Fertility: A Critical Review of Lietarature. *Andrology*. 4(2).
- Rakhma, Rekha. 2015. Pengaruh Madu terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar pada Tikus Wistar Jantan yang diinduksi Monosodium Glutamat. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran, Universitas Dipernogoro.
- Rees, Margaret, Sally Hope, and Veronica Ravnika. 2005. *The Abnormal Menstrual Cycle*. Taylor & Francis Group, London.

- Reisi, P., Dashti GR, Shabrang M, Rashidi B. 2014. The Effect of Vitamin E On Neuronal Apoptosis In Hippocampal Dentate Gyrus In Rabbits Fed With High-Cholesterol Diets. *Advanced Biomedical Research*. 36(74):1-5.
- Riset Kesehatan Dasar. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Samuels S. 1999. The toxicity and safety of MSG: a study in suppression of information. *Account Res*. 6(4): 259-310.
- Shang, Chen-Guang, Zhao-Hui Liu, Xiao-Hui Wang, Zong-Hao Feng, and Yan Zhang. 2017. Effect of High-fat Diet-induced Disorders on Rat with Endometrial Hyperplasia and Adiponectin System in Circulation and Uterus. *Chinese Medical Journal*. 130(15):1831-1837.
- Sharma R., Biedenharn KR, Fedor JM, and Agarwal A. 2013. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 11(66):1-15.
- Sherwood, Lauralee. 2011. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Siagian M., Ahmad A. J., Mitra H. 2014. Pengaruh Paparan Monosodium Glutamat Terhadap Fungsi dan Gambaran Histologis Ginjal Tikus serta Perubahannya Pasca Penghentian Paparan. *J Indon Med Assoc*. 64(7).
- Sinsin, Iis. 2008. *Seri Kesehatan Ibu dan Anak Masa Kehamilan dan Persalinan*. PT Elex Media Computido, Jakarta.
- Smith JB dan S Mangkoewidjojo., 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Snell, R. S. 2012. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. EGC, Jakarta.
- Solimun. 2001. *Metode Penelitian Kuantitatif*. Penerbit Alfabeta, Bandung.
- Vogli, Roberto, Anne Kouvoner, and David Gimeno. 2014. The Influence of Market Deregulation on Fast Food Consumption and Body Mass Index: A Cross National Time Series Analysis. *Bull World Health Organ*. 7(A): 92-99.
- Wahono, Djoko, Iva Tsalissavrina, and Dian Handayani. 2006. The Influence of High-Carbohydrate Diet Administration in Comparison with High-Fat Diet Toward Triglyceride and HDL Level in Blood on *Rattus norvegicus strain wistar*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 22(2): 80-89.
- Wahyuni, E.D., Cory C. S., Yuyun Y., Wisnu B., dan Pande M. D. 2014. Combination of Vitamin C and E Modulated Monosodium Glutamate

Induced Endometrial Toxicity in Female Wistar Rats. *Asian Pasific Journal of Reproduction*. 3(2): 106-109.

Wallace, Ian R., Michelle C., Patrick M. Bell, and Steven J. Hunter. 2013. Sex hormone binding globulin and insulin resistance. *Clinical Endocrinology*. 78(3):321-329.

Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M., Prasetyo E. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. <http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKMK/article/download/149/150>,

Winarno. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Winarto, Asmarita J., dan Tri Nur K. 2014. Pemberian Virgin Coconut Oil untuk Meningkatkan Jumlah dan Motilitas Spermatozoa: Studi pada Tikus Wistar dengan Diet Tinggi Lemak (Virgin Coconut Oil Increase The Sperm Number and Mmotility in Wistar Rats with High-fat Diet). *Penel Gizi Makan*. 37(2):161-167.

World Health Organization, 2004. *Infecundity, Infertility, and Childlessness in Developing Countries*. (online), (<http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/DHS-CR9.pdf>, diakses pada 22 Mei 2017).

World Health Organization, 2014. *Sodium Intake for Adults and Children*. (online), (http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf, diakses pada 22 Maret 2018).

Yeomans, Martin R. & Una Masic. 2017. Umami and The Control of Appetite. *Wiley Library*. 10(1): 139-172.

Yu Wu, Xiaohong Gao, Xiang Lu, Ji Xi, Shan Jiang, Yin Sun and Xiaowei Xi. 2014. Endometrial Thickness Affects The Outcome of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer in Normal Responders After GnRH Antagonist Administration. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 12 (96):1-5.

Zagorsky, Jay L., and Patricia K. S. 2017. The association between socioeconomic status and adult fast-food consumption in the U. S. *Economics and Human Biology*. 27(A); 12-25.

Zhao Ma, Ning, Lei Chen, Wei Dai, Zhi-Qin Bu, Lin-Li Hu, and Ying-Pu Sun. 2017. Influence of endometrial thickness on treatment outcomes following in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 15(5):1-7.

Zhu Wang, Ting-Ting Gong, Da Li, and Qi-Jun Wu. 2016. Cholesterol Consumption and Risk of Endometrium Cancer: A systematic Reviewe

and Dose-Response Meta-Analysis of Observational Studies. *Oncotarget*. 2(13): 16996-17008.

Zia, Qamar K., Hanif R., and Khalil M. 2014. Effect of monosodium glutamate on the serum estrogen and progesterone levels in female rat and prevention of this effect with diltiazem. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 26(1): 18-20.

